

# **Alkoholien asetaalisuojaryhmien rakenteen vaikutus suojausten happolabiilisuuteen**

Henna Koivikko

Pro gradu -tutkielma

Helsingin yliopisto

Kemian laitos

Orgaanisen kemian laboratorio

Marraskuu 2017

Tiedekunta – Fakultet – Faculty		Koulutusohjelma – Utbildningsprogram – Degree programme
Matemaattis-luonnontieteellinen tiedekunta		Kemian koulutusohjelma
Tekijä – Författare – Author		
Henna Koivikko		
Työn nimi – Arbetets titel – Title		
Alkoholien asetaalisuojaryhmien rakenteen vaikutus suojausten happolabiilisluuteen		
Oppiaine – Läroämne – Subject		
Orgaaninen kemia		
Työn laji – Arbetets art – Level	Aika – Datum – Month and year	Sivumäärä – Sidoantal – Number of pages
Pro gradu -tutkielma	Marraskuu 2017	63
Tiivistelmä – Referat – Abstract		
<p>Asetaalit ovat happolabiileja orgaanisia yhdisteitä, joissa yhdessä hiiliatomissa on kiinni kaksi alkoksiryhmää. Asetaalit ovat suosittuja alkoholien suojauksessa, sillä ne kestävät hyvin sekä emäksisiä, että hapettavia reagensseja, mutta niiden poisto happokatalyyttisen hydrolyysin kautta onnistuu usein laimeillakin hapoilla. Asetaalien hydrolyysimekanismia on tutkittu erityisesti 1950-luvulta aina 1970-luvulle, mutta uudempia tutkimuksia on vähemmän, eikä perusteellista katsausta asetaalisuojaryhmien rakenteen vaikutuksista suojausten pysyvyyteen ole aikaisemmin tehty.</p> <p>Tämä pro gradu -tutkielma koostuu kahdesta osasta, joista ensimmäinen, kirjallisuusosa, käsittelee asetaalien ja asetaalisuojaryhmien hydrolyysin mekanismeja sekä kinetiikkaa. Erityisesti uusia asetaalisuojaryhmiä kehitettäessä rakenteen vaikutusten tunteminen on tärkeää, jotta uusien suojaryhmien ominaisuuksia on mahdollista ennakoita. Epäsymmetrisillä asetaaleilla, kuten asetaalisuojatuilla alkoholeilla, hydrolyysissä on kaksi mahdollista irtoavaa alkoksiryhmää. Suojaryhmän stabiilisuutta arvioitaessa on tärkeä tietää, kumpi ryhmistä irtoaa ensimmäisenä, sillä lähtevän ja rakenteeseen jäävän alkoksiryhmän substituenttien polaariset ominaisuudet vaikuttavat hydrolyysin nopeuteen vastakkaisilla tavoilla.</p> <p>Toisessa, kokeellisessa osassa kehitettiin MIP- eli metoksi-isopropyyლისuojaryhmään perustuva synteesimenetelmä, jonka avulla uudenlaisten alkoksi-isopropyyლისuojauksen valmistaminen on mahdollista. Tavoitteena oli kehittää uusia suojaryhmiä erityisesti nukleosidien 5'-hydroksyyli-ryhmille. Oligonukleotidisynteesissä on tärkeää, että suojaryhmien poisto onnistuu mahdollisimman laimeissa olosuhteissa, jotta nukleotidien muut ryhmät ja suojaukset eivät samalla irtoa tai reagoi.</p> <p>Kokeellisessa osassa syntetisoitiin kaksi erilaista alkoksi-isopropyyლისuojaryhmää, täysin uudenlainen sykloheksyylioksi-isopropyyლისuojaus ja kerran aikaisemmin raportoitu bentsyylioksi-isopropyyლისuojaus. Lopuksi kyseisten suojaryhmien sekä MIP-suojauksen stabiilisuuksia vertailtiin erilaisissa happoliuksissa, jotta alkoksiryhmien substituenttien vaikutus suojausten stabiilisuuteen voitiin havaita. Bentsyylioksi-isopropyyli- ja MIP-suojauksen välillä ei havaittu merkittävää stabiilisuuseroa. Sykloheksyylioksi-isopropyyლისuojaus puolestaan oli selvästi bentsyylioksi-isopropyyli- ja MIP -suojauksia labiilimpi. Tässä työssä kehitetyn synteesimenetelmän avulla voidaan siten valmistaa täysin uusia asetaalisuojaryhmiä, joiden pysyvyyden säätäminen onnistuu alkoksiryhmää vaihtamalla. Uusi MIP-suojausta labiilimpi sykloheksyylioksi-isopropyyლისuojaus on kiinnostava vaihtoehto silloin, kun asetaalisuojaryhmän poiston toivotaan onnistuvan hyvin laimeissa, lähes neutraaleissa olosuhteissa.</p>		
Avainsanat – Nyckelord – Keywords		
Asetaalit, asetaalisuojaryhmät, hydrolyysi, MIP, metoksi-isopropyylietteri, oligonukleotidit		
Säilytyspaikka – Förvaringställe – Where deposited		
Helsingin yliopiston digitaalinen arkisto HELDA		

# Sisällys

<b>Lyhenteet .....</b>	<b>1</b>
<b>KIRJALLISUUSOSA.....</b>	<b>3</b>
<b>1 Johdanto .....</b>	<b>3</b>
<b>2 Asetaalien hydrolyysin mekanismi.....</b>	<b>4</b>
2.1 Spesifinen happokatalyyysi.....	4
2.2 Yleinen happokatalyyysi .....	6
<b>3 Asetaalien hydrolyysin kinetiikka .....</b>	<b>12</b>
3.1 Nopeuslaki.....	12
3.2 Substituenttien vaikutus hydrolyysin nopeuteen.....	13
3.2.1 Keskushiilen substituentit.....	13
3.2.2 Alkoksiryhmien substituentit symmetrisillä asetaaleilla .....	15
3.2.3 Alkoksiryhmien substituentit epäsymmetrisillä asetaaleilla .....	15
3.3 Kilpailevat reaktiot.....	17
<b>4 Asetaalisuojaryhmät.....</b>	<b>18</b>
4.1 Rakenne ja stabiilisuus .....	18
4.2 Suojaryhmien vertailu ja hydrolyysiolosuhteiden vaikutukset .....	21
<b>5 Yhteenveto .....</b>	<b>25</b>
<b>KOKEELLINEN OSA .....</b>	<b>26</b>
<b>6 Johdanto .....</b>	<b>26</b>

<b>7 Tulokset ja tulosten tarkastelu .....</b>	<b>27</b>
7.1 2-Alkoksipropeenien synteesit .....	27
7.2 Alkoksi-isopropyylisuojauskset.....	29
7.3 Stabiilisuuskokeet .....	31
7.4 Jatkotutkimukset ja päätelmät .....	35
<b>8 Menetelmät .....</b>	<b>38</b>
8.1 Yleiset menetelmät.....	38
8.2 Liuottimet ja reagenssit .....	38
<b>9 2-Alkoksipropeenien synteesit .....</b>	<b>39</b>
9.1 2-Sykloheksyylioksipropeenin synteesi .....	39
9.2 2-Bentsyylioksipropeenin synteesi.....	47
<b>10 5'-Hydroksyyliyhymien alkoksi-isopropyylisuojauskset .....</b>	<b>52</b>
10.1 Synteesireitti tymidiinistä 5'- <i>O</i> -alkoksi-isopropyylitymidiiniksi .....	52
10.2 3'- <i>O</i> -Bentsoyylitymidiinin valmistus.....	53
10.3 5'-Hydroksyylien suojaukset 2-alkoksipropeeneilla.....	56
10.4 3'- <i>O</i> -Bentsoyyliryhmien poisto ammonolyysillä.....	58
<b>11 Stabiilisuuskokeet .....</b>	<b>59</b>
<b>12 Yhteenveto .....</b>	<b>60</b>
<b>Viitteet.....</b>	<b>61</b>

## Lyhenteet

AcOH	Etikkahappo
Bn	Bentsyyli
BOM	Bentsyylioksimetyyli
Bz	Bentsoyyli
DCM	Dikloorimetaani
DMAP	4-Dimetyyliaminopyridiini
DMSO	Dimetyylisulfoksidi
DMSO-d6	Deuteroitu dimetyylisulfoksidi
EE	1-Etoksietyyli
EtOAc	Etyyliasetaatti
HPLC	Korkean erotuskyvyn nestekromatografia
KOtBu	Kalium-tert-butoksidi
MEM	2-Metoksietoksimetyyli
MIP	Metoksi-isopropyyli
MOM	Metoksimetyyli
NMR	Ydinmagneettinen resonanssi (Nuclear magnetic resonance)
Ph	Fenyyli
PPTS	Pyridiinium-p-tolueenisulfonaatti
SEM	2-(Trimetyylisilyyli)etoksimetyyli
TBAF	Tetrabutyyliammoniumfluoridi
TBDMSCl	Tert-Butyylidimetyylisilylikloridi
TEA	Trietyyliamiini
THF	Tetrahydrofuraani

THP	Tetrahydropyranyyli
TLC	Ohutkerroskromatografia (Thin layer chromatography)
TMS	Tetrametyylisilaani
TMSOTf	Trimetyylisilyylitrifluorimetaanisulfonaatti
TsOH	p-Tolueenisulfonihappo

# KIRJALLISUUSOSA

## 1 Johdanto

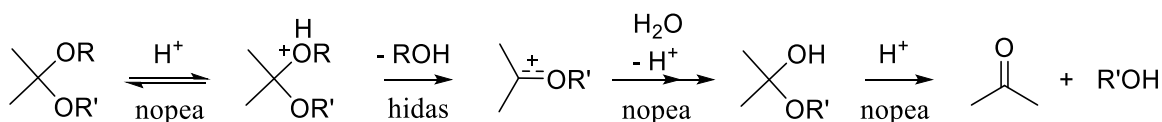
Asetaalit ovat orgaanisia yhdisteitä, joissa yhdessä hiiliatomissa on kiinni kaksi alkoksiryhmää. Asetaalit hydrolysoituvat happamissa liuoksissa, mutta kestävät hyvin sekä emäksisiä, että hapettavia olosuhteita. Asetaalisuojaryhmien stabiilisuus vastaa monilta osin eetterisuojausten stabiilisuutta, mutta asetaalien happolabiilisuus tekee niistä selvästi helpommin poistettavia, minkä vuoksi ne ovat suosittuja hydroksyyliiryhmien suojauksessa.

Asetaalien hydrolyysimekanismia on tutkittu erityisesti 1950-luvulta aina 1970-luvulle, mutta uudempia tutkimuksia on vähemmän, eikä perusteellista katsausta asetaalisuojaryhmien rakenteen vaikutuksista suojausten pysyvyyteen ole tehty. Erityisesti uusia asetaalisuojaryhmiä kehitettäessä rakenteen vaikutusten tunteminen olisi tärkeää, jotta uusien suojaryhmien ominaisuuksia olisi mahdollista ennakoida. Tässä tutkielman kirjallisuusosassa selvitetään asetaalien sekä asetaalisuojaryhmien hydrolyysin mekanismiin ja kinetiikkaan vaikuttavia tekijöitä.

## 2 Asetaalien hydrolyysin mekanismi

### 2.1 Spesifinen happokatalyysi

Asetaalit hydrolysoituvat tavallisesti spesifisen happokatalyysin kautta (kaavio 1).<sup>1,2</sup> Spesifisessä happokatalyysissä asetaali protonoituu nopeasti, ja hydrolyysin nopeutta rajoittava vaihe on alkoholin irtoaminen.<sup>1-3</sup> Alkoksiryhmän hapen ja alkyylin välisen sidoksen ei ole havaittu katkeavan asetaalien hydrolyysissä. Kyseinen reaktio johtaisi irtoavan alkoholin rasemisaatioon, ja kiraalisten alkoholien avulla on voitu osoittaa, ettei rasemisaatiota tapahdu.<sup>4,5</sup> Spesifisessä happokatalyysissä katalyyttinä toimii ainoastaan protonoitu liuotinmolekyyl, vesiliuoksessa siis hydroniumioni.<sup>6</sup>



**Kaavio 1.** Asetaalien spesifisen happokatalyysin mekanismi (A1).

Asetaalien spesifisen happokatalyysin mekanismi on unimolekulaarinen (A1), eli alkoholin irtoaminen ja vesimolekyylin liittyminen ovat erillisiä reaktioita.<sup>1,2</sup> Alkoholin irtoamisen seurauksena muodostuu karbokationi, oksokarbeniumioni, joka reagoi veden kanssa muodostaen hemiasetaalin.<sup>1,7</sup> Hemiasetaali hydrolysoituu nopeasti alkoholiksi ja ketoniksi tai aldehydiksi riippuen keskushiilen substitueinteista.<sup>1,7</sup> Hemiasetaalin hydrolyysiä voivat katalysoida sekä hapot että emäkset.<sup>8</sup>

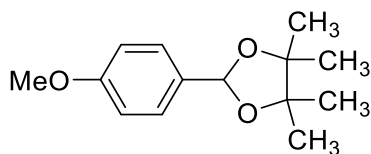
Liuottimen on havaittu osallistuvan reaktion nopeutta rajoittavaan vaiheeseen joissakin harvinaisissa tapauksissa (A2-mekanismi).<sup>9,10</sup> Hemiasetaalin hydrolyysin on havaittu olevan asetaalien hydrolyysin nopeutta rajoittava vaihe muutamissa tutkimuksissa,<sup>11,12</sup> mutta kyseisten tutkimusten luotettavuutta on jälkepäin kritisoitu.<sup>13</sup> A1-mekanismia pidetään asetaalien spesifisen happokatalyysin yleisesti hyväksyttynä mekanismina.<sup>1,2</sup>



Asetaalin substituentteilla on suuri merkitys yhdisteen reaktiivisuuden kannalta. Elektroneja luovuttavat substituentit asetaalin keskushiilessä, sekä rakenteeseen jäävässä alkoksiryhmässä, stabiloivat muodostuvaa karbokationia ja nopeuttavat alkoholin irtoamista.<sup>1,14-16</sup> Ketaalit, eli asetaalit, joiden keskushiilessä on kaksi alkyyliryhmää, hydrolysoituvat tämän vuoksi muita asetaaleja nopeammin. Lähtevän alkoksiryhmän substituenttien vaikutus ei ole yhtä merkittävä.<sup>1,15</sup> Elektroneja luovuttavat substituentit lähtevässä alkoksiryhmässä tekevät alkoksiryhmän hapesta emäksisemmän ja nopeuttavat siten protonaatiota, mutta hidastavat samalla alkoholin irtoamista stabiloimalla protonaation seurauksena muodostuvaa positiivista varausta. Elektroneja puoleensa vetävät substituentit puolestaan nopeuttavat alkoholin irtoamista mutta hidastavat protonaatiota. Lähtevän alkoksiryhmän substituentit siis sekä hidastavat että nopeuttavat reaktiota samanaikaisesti, minkä vuoksi kokonaisvaikutus jää pieneksi.<sup>1,15</sup>

## 2.2 Yleinen happokatalyysi

Spesifinen happokatalyysi oli ainut yleisesti hyväksytty mekanismi asetaalien happokatalyyttiselle hydrolyysille vielä 1960-luvun alussa, kunnes ensimmäinen havainto asetaalien yleisestä happokatalyyysistä julkaistiin vuonna 1967.<sup>9</sup> Kyseisessä tutkimuksessa T. Fife havaitsi, että 2-(p-metoksifenyyli)-4,4,5,5-tetrametyyli-1,3-dioksolaani (kuva 1) hydrolysoituu yleisen happokatalyyysin kautta.<sup>9</sup> Kyseisen yhdisteen metyyliiryhmät toimivat steerisenä esteenä vaikeuttaen happiatomien protonaatiota, ja p-metoksifenyyliiryhmä stabiloi muodostuvaa karbokationia, minkä seurauksena protonaatiosta tulee reaktion nopeutta rajoittava vaihe.<sup>9</sup>



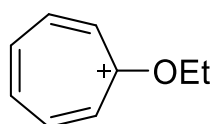
**Kuva 1.** 2-(p-metoksifenyyli)-4,4,5,5-tetrametyyli-1,3-dioksolaani.

Yleisessä happokatalyyysissä asetaalin protonaatioon voivat osallistua useat eri liuoksessa olevat hapot (ei ainoastaan hydroniumioni, vrt. spesifinen happokatalyysi), ja happiatomin protonaatio on kokonaan tai osittain reaktion nopeutta rajoittava vaihe. Tämän vuoksi erityisesti kaksi tekijää asetaalin rakenteessa edesauttavat mekanismin vaihtumista spesifisestä yleiseksi happokatalyyysiksi: vaikea happiatomin protonaatio sekä helppo C-O-sidoksen katkeaminen.<sup>1,2,17</sup> Kun asetaalin tavallisesti nopeutta rajoittava C-O-sidoksen katkeaminen nopeutuu, mahdollisuus nopeutta rajoittavaan protonaatioon kasvaa.

Protonaatiota voivat hidastaa happiatomin heikko emäksisyys (elektronegatiiviset substituentit lähtevässä ryhmässä) sekä steeriset esteet, kuten tert-butyyliryhmä.<sup>9,13</sup> C-O-sidoksen katkeamista nopeuttavat keskushiilen ja jäävän alkoksiryhmän elektroneja luovuttavat substituentit, jotka stabiloivat muodostuvaa karbokationia.<sup>1,2</sup> Myös steerisesti jännittyneen rakenteen hajoaminen voi nopeuttaa C-O-sidoksen katkeamista.<sup>2,18</sup>

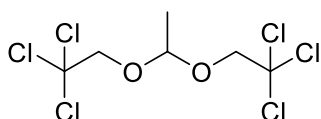
Elektronegatiiviset substituentit irtoavassa alkoholissa hidastavat protonaatiota ja nopeuttavat C-O-sidoksen katkeamista, mitkä ovat yleisen happokatalyyysin edellytykset. Symmetrisillä asetaaleilla kuitenkin elektroneja puoleensa vetävät substituentit heikentävät samalla myös karbokationin pysyvyyttä.<sup>16</sup> Kun happiatomin emäksisyys heikkenee elektronegatiivisen substituentin vuoksi,<sup>14,19</sup> pienenee samalla karbokationiin jäävän alkoksiryhmän kyky osallistua positiivisen varauksen stabilointiin.

Yleisen happokatalyyysin tärkein edellytys on nopea C-O-sidoksen katkeaminen.<sup>2</sup> Alkoksiryhmän happiatomin vaikea protonoituminen ei yleensä riitä yksinään mekanismin vaihtumiseen yleiseksi happokatalyyysiksi.<sup>2</sup> Sen sijaan erityisen pysyvän karbokationin, kuten etoksitropyliumkationin (kuva 2), muodostumisen on havaittu olevan riittävä edellytys mekanismin vaihtumiseen, vaikka lähtevä ryhmä olisi huono.<sup>20</sup>



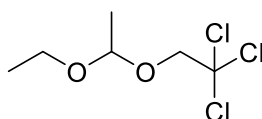
**Kuva 2.** Etoksitropyliumkationi.

Alkoholien suojauksessa käytettyjen asetaalisuojaryhmien kannalta mielenkiintoinen havainto on se, että epäsymmetriset asetaalit hydrolysoituvat useammin yleisen happokatalyyysin kautta kuin vastaavat symmetriset asetaalit.<sup>16,17</sup> Ero johtuu siitä, että epäsymmetrisillä asetaaleilla lähtevän ryhmän ominaisuudet eivät vaikuta karbokationin pysyvyyteen.<sup>16</sup> Epäsymmetrisillä asetaaleilla lähtevässä alkoholissa voi olla C-O-sidoksen katkeamista edistävä ja protonaatiota hidastava elektronegatiivinen ryhmä, ja samanaikaisesti rakenteeseen jäävässä alkoksiryhmässä voi olla elektropositiivinen, karbokationia stabiloiva ryhmä. Esimerkiksi A. Kankaanperän ja M. Lahden tutkimusten mukaan epäsymmetrinen asetaldehydin etyylitrikloorietyyliasetaaali hydrolysoituu yli 10<sup>4</sup> kertaa nopeammin kuin vastaava symmetrinen trikloorietyyliasetaaali (kuva 3).<sup>16,21</sup> Suojaryhminä käytettyjen asetaalien mekanismeista tutkittaessa on siis hyvä pitää mielessä myös yleisen happokatalyyysin mahdollisuus.



symmetrinen asetaldehydin  
trikloorietyyliasetaaali

spesifinen happokatalyyysi,  
 $k_H = 6,92 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$

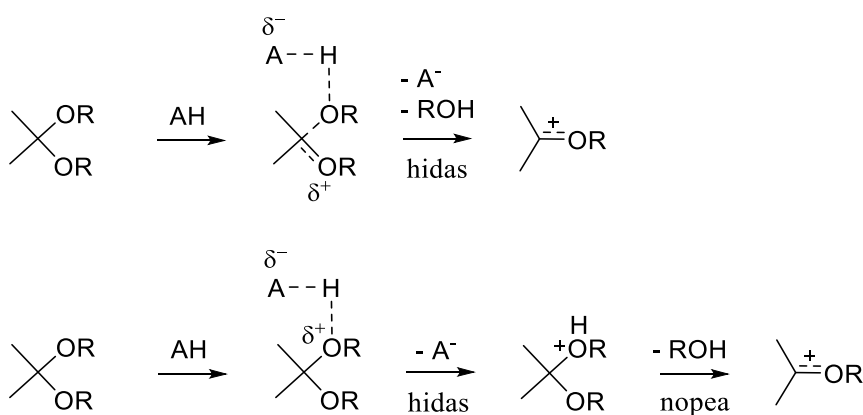


epäsymmetrinen asetaldehydin  
etyylitrikloorietyyliasetaaali

yleinen happokatalyyysi,  
 $k_H = 0,145 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$

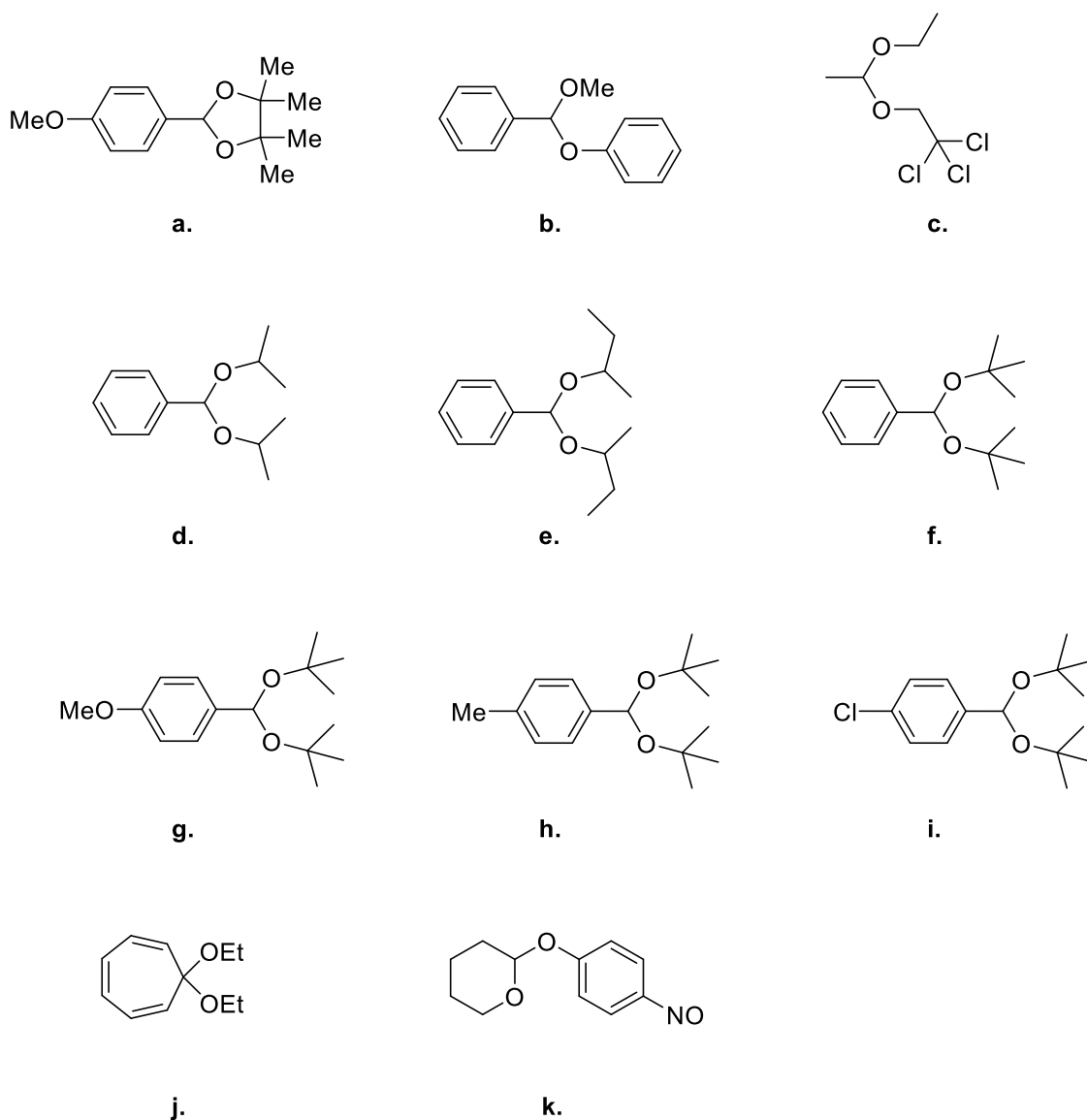
**Kuva 3.** Symmetrisen ja epäsymmetrisen asetaalin hydrolyysien mekanismi- ja nopeusero. Nopeusvakiot mitattu dioksaani-vesi-seoksessa (65/35 w/w) 25 °C:ssa.<sup>16,21</sup>

Asetaalien yleisessä happokatalyyysissä sekä A-S<sub>E</sub>2 että yhtäkaismekanismi (kaavio 2) ovat mahdollisia,<sup>17</sup> mutta yhtäkaismekanismi on näistä kahdesta tavallisempi.<sup>1,22</sup> A-S<sub>E</sub>2 -mekanismissa<sup>23</sup> asetaalin hidas protonaatio on reaktion nopeutta rajoittava vaihe, jonka jälkeen alkoholin irtoaminen tapahtuu nopeasti.<sup>17</sup> Yhtäkaismekanismissa puolestaan sekä protonaatio että C-O-sidoksen katkeaminen tapahtuvat (jossain määrin) samanaikaisesti.<sup>1,17</sup> Yhtäkaismekanismi on mekanistisesti lähempänä spesifistä happokatalyyysiä, sillä C-O-sidoksen katkeaminen on edelleen osa reaktion nopeutta rajoittavaa vaihetta.



**Kaavio 2.** Asetaalien yleisen happokatalyyysin mahdolliset mekanismit, yhtäkaismekanismi (concerted mechanism) (yllä) ja A-S<sub>E</sub>2 -mekanismi (alla).<sup>17</sup>

Kuvassa 4 on esitetty asetaaleja, joiden on havaittu hydrolysoituvan yleisen happokatalyyysin kautta. Kuvasta voidaan havaita, että suurimmassa osassa yhdisteistä keskushiilessä on jokin aromaattinen substituentti. Aromaattiset substituentit, kuten fenyyli, mahdollistavat yleisen happokatalyyysin esiintymisen, sillä hydrolyysissä muodostuvat bentsyylliset karbokationit ovat erityisen stabiileja positiivisen varauksen konjugoitumisen vuoksi.



**Kuva 4.** Yleisen happokatalyysin kautta hydrolysoituvia asetaaleja. **a.** 2-(p-metoksifenyyli)-4,4,5,5-tetrametyyli-1,3-dioksolaani<sup>9</sup> **b.** bentsaldehydin metyylifenyylisasetaali<sup>17</sup> **c.** aetaldehydin etyyli- trikloorietyylisasetaali<sup>16</sup> **d.** bentsaldehydin di-isopropyylisasetaali<sup>13</sup> **e.** bentsaldehydin di-sek-butyylisasetaali<sup>13</sup> **f.** bentsaldehydin di-tert-butyylisasetaali<sup>13</sup> **g.** p-metoksibentsaldehydin di-tert-butyylisasetaali<sup>18</sup> **h.** p-metyyli-bentsaldehydin di-tert-butyylisasetaali<sup>18</sup> **i.** p-klooribentsaldehydin di-tert-butyylisasetaali<sup>18</sup> **j.** 7,7-dietoksisyklohepta-1,3,5-trieeni<sup>20</sup> **k.** 2-(p-nitrofenoksi)-tetrahydropyraani<sup>24</sup>

Yhdiste c, asetaldehydin etyyliatrikloorietyyliasetali,<sup>16</sup> poikkeaa selvästi muista: yhdiste on epäsymmetrinen asetali, jonka keskushiilessä on ainoastaan yksi metyyli-ryhmä. Metyylin kyky stabiloida positiivisesti varautunutta karbokationia ei ole erityisen suuri, mutta yhdisteen epäsymmetrisyys saa aikaan mekanismin vaihtumisen yleiseksi happokatalyyksiksi (kts. s.8).<sup>16</sup> Yhdisteen toisen alkoksiryhmän substituentti, trikloorietyyli, on erittäin elektronegatiivinen, kun puolestaan toinen substituentti on elektroposiitivinen etyyli. Trikloorietyylialkoholi on siis erittäin hyvä lähtevä ryhmä, mutta protonoituu hitaasti, ja etoksiryhmä stabiloi hyvin muodostuvaa karbokationia. Kyseinen A. Kankaanperän ja M. Lahden tutkima yhdiste on ensimmäinen havainto siitä, että yleinen happokatalyyysi on selvästi tavallisempi mekanismi epäsymmetrisillä asetaaleilla kuin symmetrisillä asetaaleilla.<sup>16</sup>

Kahdella viimeisellä E. Andersonin ja T. Fife:n tutkimalla yhdisteellä, 7,7-dietoksisyklohepta-1,3,5-trieenillä<sup>20</sup> ja 2-(p-nitrofenoksi)-tetrahydropyranilla<sup>24</sup> on havaittu yleisen happokatalyyysin lisäksi toinen hydrolyysimekanismi: spontaani, pH:sta riippumaton hydrolyysi. 7,7-Dietoksisyklohepta-1,3,5-trieenillä spontaani hydrolyysi voitiin havaita pH:n ollessa yli 10 ja 2-(p-nitrofenoksi)-tetrahydropyranilla pH:n ollessa yli 4. 7,7-Dietoksisyklohepta-1,3,5-trieenillä erittäin pysyvän karbokationin arvioitiin olevan tärkein syy spontaanin hydrolyysin esiintymiselle.<sup>20</sup> 2-(p-nitrofenoksi)-tetrahydropyranilla puolestaan hyvän lähtevän ryhmän (p-nitrofenoksi) arvioitiin olevan tärkein tekijä, sillä spontaani hydrolyysi voitiin havaita myös happamissa oloissa.<sup>24</sup> G.-A. Craze ja A. J. Kirby ovat tutkineet tarkemmin lähtevän ryhmän vaikutusta meta- ja para-substituoiduilla 2-fenoksitetrahydropyraaneilla, ja havainneet, että lähtevän ryhmän emäksisyydellä on hyvin suuri vaikutus ( $\rho^- 2,7$ ) kyseisten yhdisteiden spontaaniin hydrolyysiin.<sup>25</sup>

### 3 Asetaalien hydrolyysin kinetiikka

#### 3.1 Nopeuslaki

Asetaalien happokatalyyttisen hydrolyysin nopeuslait voidaan esittää kaavoilla 1 (spesifinen happokatalyyysi) ja 2 (yleinen happokatalyyysi).<sup>1</sup>

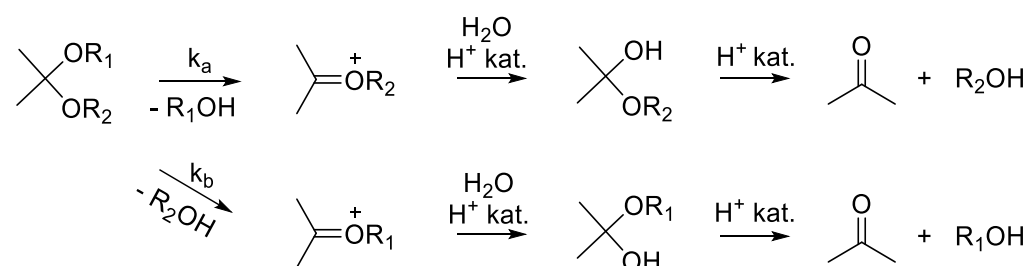
$$k_{hav} = k_H[H^+] \quad (\text{kaava 1})$$

$$k_{hav} = k_H[H^+] + \sum_i k_{HA}(HA)_i \quad (\text{kaava 2})$$

Spesifisessä happokatalyyysissä reaktion nopeuteen vaikuttaa ainoastaan yhden hapon, protonoituneen liuotinmolekyylin, konsentraatio. Yleisessä happokatalyyysissä nopeuteen vaikuttavat myös muut seoksessa olevat hapot.

Epäsymmetrisillä asetaaleilla vakio  $k_H$  voidaan jakaa kahteen osaan (kaava 3), sillä asetaalissa on kaksi mahdollista irtoavaa alkoholia. Vakiot  $k_a$  ja  $k_b$  kuvastavat kilpailevia reaktioita (kaavio 3), ja kokonaisvakio  $k_H$  on näiden kahden kilpailevan reaktion summa.<sup>15</sup>

$$k_H = k_a + k_b \quad (\text{kaava 3})$$



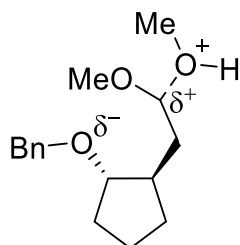
**Kaavio 3.** Epäsymmetrisen asetaalin hydrolyysissä kilpailevat reaktiot.



## 3.2 Substituenttien vaikutus hydrolyysin nopeuteen

### 3.2.1 Keskushiilen substituentit

Asetaalin keskushiilen substituentit vaikuttavat sekä symmetrisillä että epäsymmetrisillä asetaaleilla samalla tavalla: karbokationin stabiilisuutta lisäävät substituentit nopeuttavat asetaalin hydrolyysiä.<sup>1,26,27</sup> Karbokationin stabiilisuuden kasvaessa reaktiomekanismin vaihtuminen spesifisestä happokatalyyysistä yleiseen happokatalyyysiin on myös todennäköisempää.<sup>1,20</sup> Tunnettuja karbokationia stabiloivia tekijöitä ovat alkyyliryhmät (tertiäärinen karbokationi pysyvin), positiivisen varauksen konjugoituminen (allyyliset ja bentsyylliset karbokationit) sekä lähellä olevat vapaat elektroniparit (oksonium- tai iminium-ionin muodostuminen). Lisäksi A. Garcian tutkimusryhmä on havainnut, että myös hieman kauempana olevien alkoksiryhmien elektroniparit voivat stabiloida karbokationia ja nopeuttaa hydrolyysiä jopa 20-kertaisesti verrattuna asetaaliin, jossa kyseistä alkoksiryhmää ei ole, jos alkoksiryhmä on molekyyllissä avaruudellisesti lähellä positiivista varausta (kuva 5).<sup>28</sup>



**Kuva 5.** Esimerkki asetaalista, jossa usean hiiliatomin päässä oleva alkoksiryhmä voi stabiloida muodostuvan karbokationin positiivista varausta ja nopeuttaa hydrolyysiä.<sup>28</sup>

B. Liu:n ryhmä on hiljattain vertaillut eri substituenttien vaikutuksia asetaalien stabiilisuuteen.<sup>27</sup> Tutkimuksesta voidaan havaita, että keskushiilen substituenttien määrä on tärkeä tekijä asetaalien hydrolyysissä. Asetaalin, jonka keskushiileissä oli kaksi metyyliryhmää, puoliintumisaika oli 33 tuntia, kun vastaava asetaali, jossa metyylit oli korvattu vedyillä, oli inertti. Alkyyliryhmän pituudella ei puolestaan havaittu olevan merkitystä, sillä metyylin vaihtaminen heptyyliin ei vaikuttanut merkittävästi puoliintumisaikaan. Substituentin syklistyydellä oli kuitenkin selkeä vaikutus. Ketaalin,

jonka keskushiilessä oli kaksi metyyliä, puoliintumisaika oli 32 tuntia. Kun keskushiilen metyyliiryhmät vaihdettiin syklopentyyliksi, puoliintumisaika kasvoi 51 tuntiin. Kun substituentti oli sykloheksyyli, puoliintumisaika oli 221 tuntia. Syklopentyylin ja sykloheksyylin ero johtuu siitä, että renkaiden torsionaalinen jännite perustilan ja transitiotilan välillä on erilainen.<sup>29</sup> M. Kreevoy ryhmineen ovat tutkineet tarkemmin eri kokoisten renkaiden vaikutusta asetaalien hydrolyysin nopeuteen.<sup>29</sup>

B. Liun ryhmän tutkimuksessa<sup>27</sup> vertailtiin myös erilaisia aromaattisia substituentteja keskushiilessä. Asetaalin, jonka keskushiilen substituentti oli elektroneja luovuttava p-metoksifenyyli, hydrolyysi oli liian nopea mitattavaksi. Kun keskushiilen substituentti korvattiin elektroneja puoleensa vetävällä p-nitrofenyyllillä, kasvoi puoliintumisaika 52 tuntiin. Substituentin ollessa fenyyli vastaavan asetaalin puoliintumisaika oli 4 minuuttia. Lisäksi voitiin havaita selvä ero 2,4,6-trimetoksifenyylin ja 3,4,5-trimetoksifenyylin välillä. Asetaalin, jonka keskushiilen substituentti oli 2,4,6-trimetoksifenyyli, hydrolyysin puoliintumisaika oli noin 2 tuntia. Sen sijaan asetaalin, jossa metoksiryhmät olivat fenyylin 3,4,5-hiiliissä, puoliintumisaika oli 425 tuntia. Reaktion hidastuminen johtuu siitä, että meta-substituentit toimivat induktiivisesti elektroneja puoleensa vetävinä ryhminä, minkä vuoksi 3,4,5-trimetoksifenyyli on elektroneja puoleensa vetävä, karbokationin pysyvyyttä heikentävä ja asetaalien hydrolyysiä hidastava ryhmä.

Keskushiilen substituenttien vaikutukset asetaalien hydrolyysin nopeuteen ovat siis tavallisesti hyvin pääteltävissä karbokationia stabiloivien tekijöiden perusteella. Elektroneja luovuttavat, elektroposiitiiviset substituentit stabiloivat karbokationia ja nopeuttavat asetaalien hydrolyysiä, ja elektroneja puoleensa vetävät, elektronegatiiviset substituentit heikentävät karbokationin pysyvyyttä ja hidastavat hydrolyysiä. Vapaat elektroniparit sekä kaksoissidosrakenne, joihin positiivinen varaus pystyy konjugoitumaan, stabiloivat karbokationia ja nopeuttavat hydrolyysiä. Lisäksi steeristen jännitteiden vaikutus täytyy joissain tapauksissa ottaa huomioon.

### 3.2.2 Alkoksiryhmien substituentit symmetrisillä asetaaleilla


Symmetrisillä asetaaleilla elektronegatiiviset substituentit alkoksiryhmissä hidastavat ja elektropositiiviset substituentit nopeuttavat hydrolyysiä.<sup>27</sup> Elektroneja puoleensa vetävät substituentit hidastavat asetaalin protonaatiota sekä nopeuttavat C-O-sidoksen katkeamista, mutta heikentävät samalla myös karbokationin pysyvyyttä, minkä seurauksena kokonaisreaktio hidastuu.<sup>1,27</sup> Elektroneja luovuttavat substituentit puolestaan nopeuttavat protonaatiota ja hidastavat C-O-sidoksen katkeamista, mutta stabiloivat myös muodostuvaa karbokationia ja nopeuttavat siten kokonaisreaktiota.<sup>1,27</sup> Esimerkiksi B. Liu:n ryhmän tutkimuksessa voitiin havaita, että elektroneja puoleensa vetävän substituentin siirtäminen kuuden hiiliatomin etäisyydeltä kahden hiiliatomin etäisyydelle alkoksiryhmän hapesta sai reaktion hidastumaan 24 minuutista 32 tuntiin, minkä arvioitiin johtuvan karbokationin pysyvyyden heikkenemisestä.<sup>27</sup>

### 3.2.3 Alkoksiryhmien substituentit epäsymmetrisillä asetaaleilla

#### 3.2.3.1 Jäävä alkoksiryhmä

Epäsymmetristen asetaalien hydrolyysissä rakenteeseen jäävän alkoksiryhmän substituenteilla on selvästi suurempi merkitys reaktion nopeuden kannalta kuin lähtevän alkoksiryhmän substituenteilla.<sup>1,15</sup> Elektropositiiviset, karbokationia stabiloivat substituentit jäävässä alkoksiryhmässä nopeuttavat reaktiota ja elektronegatiiviset puolestaan hidastavat sitä.<sup>1,15</sup> P. Salomaan tutkimuksen mukaan formaldehydin epäsymmetristen asetaalien hydrolyysin nopeus kasvaa 22-kertaiseksi, kun jäävän alkoksiryhmän substituentti vaihdetaan metyylistä isopropyyliksi.<sup>15</sup> Elektronegatiivisen fluorietyylin vaihto elektropositiiviseksi isopropyyliksi puolestaan aiheuttaa P. Salomaan tutkimuksen mukaan jo yli 270-kertaisen reaktionopeuden.<sup>15</sup> Jäävän alkoksiryhmän vaikutus voidaan havaita myös H. Seto:n ryhmän tutkimuksessa, jossa MOM-suojauksen (metoksimetyylieetteri) hydrolyysin nopeus on riippuvainen siitä, minkä arvoinen alkoholi on suojattu (taulukko 1).<sup>30</sup>

**Taulukko 1.** MOM-suojauksen hydrolyysiaikoja kationisella ioninvaihtohartsilla (Dowex-50W) metanolissa.<sup>30</sup>

MOM-suojattu alkoholi	hydrolyysiaika (h)
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{12}\text{CH}_2\text{O-MOM}$	30
$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{11}\text{CH}(\text{CH}_3)\text{O-MOM}$	8
$(\text{CH}_3)_2\text{CH}(\text{CH}_2)_3\text{C}(\text{CH}_3)\text{CH}_2\text{CH}_3$ <div style="text-align: center;">  </div>	2
$\text{Ph}-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{O-MOM}$	0,5

Lähtevän alkoksiryhmän tapauksessa metyylin vaihtaminen isopropyyliin ainoastaan kaksinkertaistaa reaktionopeuden.<sup>15</sup> Jäävän alkoksiryhmän substituenttien vaikutus on todennäköisesti erityisen suuri juuri formaldehydin asetaaleilla, eli myös MOM-suojauksella, sillä karbokationia stabiloivat muut substituentit puuttuvat keskushiilestä, jolloin stabiloiva alkoksiryhmä on erityisen tärkeä reaktion kannalta.

### 3.2.3.2 Lähtevä alkoksiryhmä

Epäsymmetristen asetaalien lähtevän alkoksiryhmän substituenttien vaikutus reaktion nopeuteen ei ole suuri.<sup>1,15</sup> Sekä elektronegatiiviset että elektroposiitiiviset substituentit nopeuttavat reaktiota hieman, sillä elektroposiitiiviset substituentit nopeuttavat protonaatiota, ja elektronegatiiviset substituentit puolestaan nopeuttavat C-O-sidoksen katkeamista.<sup>15</sup> P. Salomaan tutkimuksen mukaan (formaldehydin asetaalien) lähtevän alkoksiryhmän metyyli-ryhmän vaihtaminen elektroposiitiiviseen isopropyyliin tai elektronegatiiviseen fluorietyyliin johtaa molemmissa tapauksissa noin kaksinkertaiseen reaktionopeuteen.<sup>15</sup> Alkoksiryhmä, jossa on hyvin elektronegatiivinen substituentti, voi myös saada mekanismin vaihtumaan spesifisestä yleiseksi happokatalyysiksi, jos jäävä alkoksiryhmä on karbokationia stabiloiva.<sup>16</sup>

### 3.3 Kilpailevat reaktiot

Epäsymmetrisillä asetaaleilla hydrolyysissä kilpailee kaksi reaktiota (s. 12, kaavio 3), sillä yhdisteessä on kaksi mahdollista irtoavaa alkoholia. P. Salomaan tutkimuksen mukaan toinen reaktio on kuitenkin hallitseva silloin, kun (formaldehydin) asetaalin toisen alkoksiryhmän substituentti on hyvin elektronegatiivinen, ja toisen hyvin elektropositiivinen. Alkoksiryhmä, jossa on elektronegatiivinen substituentti, irtoaa yli 99 % osuudella kilpailevista reaktioista ja karbokationia paremmin stabiloiva alkoksiryhmä, jossa on elektropositiivinen substituentti, jää rakenteeseen (taulukko 2).<sup>15</sup> Tutkimuksen perusteella vaikuttaa myös, että kahdesta alkoksiryhmästä, joissa molemmissa on elektroneja luovuttavat substituentit, haaroittuneempi ja/tai pidempi, paremmin karbokationia stabiloiva alkoksiryhmä jää todennäköisemmin rakenteeseen ja suoraketjuinen irtoaa. Ero ei kuitenkaan ole yhtä selkeä kuin edellä. Kun toinen substituentti on etyyli ja toinen isopropyyli, etanolin irtoamisen osuus on 72 % kilpailevista reaktioista.<sup>15</sup>

**Taulukko 2.** Formaldehydin epäsymmetrisistä asetaaleista todennäköisimmin irtoavat alkoholit.<sup>15</sup>

Asetaali	Todennäköisemmin irtoava alkoholi	Osuus kilpailevista reaktioista (%)
$\text{FCH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2-\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{FCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	99,6
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2-\text{OCH}(\text{CH}_3)_2$	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$	72,0
$\text{CH}_3\text{O}-\text{CH}_2-\text{OCH}_2\text{CH}_3$	$\text{CH}_3\text{OH}$	78,9
$\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2-\text{OCH}_2\text{CH}_3$	$\text{CH}_3\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	96,6
$\text{FCH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	62,0
$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{O}-\text{CH}_2-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$	$\text{ClCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	84,3

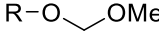
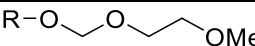
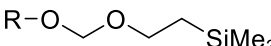
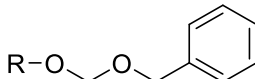
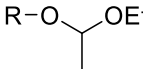
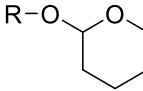

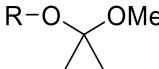

Salomaan tutkimuksen tuloksia ei voida yleistää koskemaan kaikkia epäsymmetrisiä asetaaleja. Formaldehydin asetaalit hydrolysoituvat spesifisen happokatalyyysin kautta, eikä tutkimuksessa ole huomioitu esimerkiksi yleisen happokatalyyysin merkitystä lainkaan. Tutkimus kuitenkin vahvistaa sellaisia epäsymmetristen asetaalien ominaisuuksia, joita on voitu arvioida myös karbokationien pysyvyyteen vaikuttavien tekijöiden perusteella (kts. s.13-16, Substituenttien vaikutus hydrolyysin kinetiikkaan).

## 4 Asetaalisuojaryhmät

### 4.1 Rakenne ja stabiilisuus

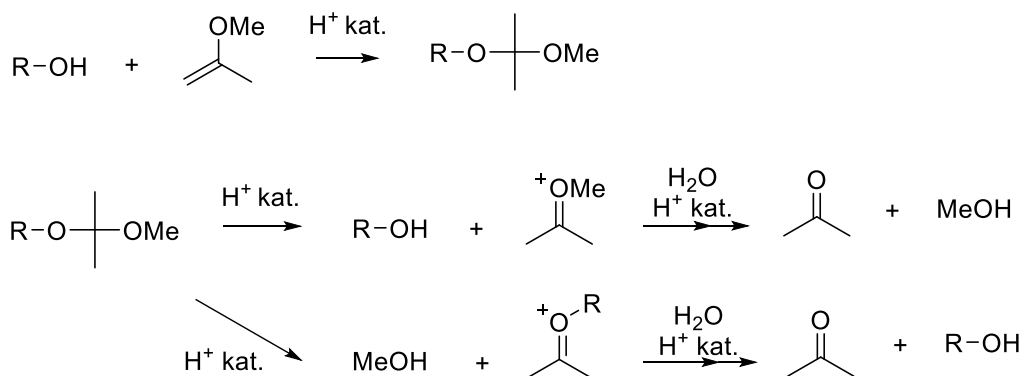
Asetaalisuojaryhmät ovat suosittuja hydroksyyliyhymien suojauksessa, mutta perusteellista katsausta asetaalisuojauksen rakenteen vaikutuksista suojauksen pysyvyyteen ei kuitenkaan ole julkaistu. Tämän kirjallisuuskatsauksen perusteella asetaalisuojaryhmien pysyvyyseroja voidaan arvioida muutamien rakenteellisten tekijöiden perusteella. Tunnetuimpia asetaalisuojaryhmiä ovat MOM, MEM, SEM, BOM, EE, THP ja MIP (taulukko 3). MIP-suojauksesta on toisinaan käytetty myös lyhenteitä MOP (metoksiopropyylietteri)<sup>31-33</sup> sekä MME (1-metyyli-1-metoksietylietteri).<sup>34,35</sup>

**Taulukko 3.** Tunnetuimpien asetaalisuojaryhmien nimet ja rakenteet, sekä reagenssit, joilla suojaryhmät tavallisesti muodostetaan.

Suojaryhmä	Rakenne	Esimerkki suojausreagenssista	
R-O-MOM Metoksi-metyylietteri		CH <sub>3</sub> OCH <sub>2</sub> Cl + emäs kat.	J. Alzeer <i>et al.</i> <sup>36</sup>
R-O-MEM 2-Metoksietoksi-metyylietteri		CH <sub>3</sub> OCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> Cl +emäs kat.	E. J. Corey <i>et al.</i> <sup>37</sup>
R-O-SEM 2-(Trimetyylisilyyli)-etoksimetyylietteri		CH <sub>3</sub> SiCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OCH <sub>2</sub> Cl + emäs kat.	B. H. Lipshutz <i>et al.</i> <sup>38</sup>
R-O-BOM Bentsyylioksi-metyylietteri		BnOCH <sub>2</sub> Cl + emäs kat.	D. A. Evans <i>et al.</i> <sup>39</sup>
R-O-EE 1-Etoksietylietteri		CH <sub>2</sub> =COCH <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> + TsOH kat.	A. I. Meyers <i>et al.</i> <sup>40</sup>
R-O-THP Tetrahydropyranyli-etteri		 + TsOH kat.	N. Miyashita <i>et al.</i> <sup>41</sup>
R-O-MIP Metoksi-isopropyyli-etteri		 + TsOH kat.	P. L. Barili <i>et al.</i> <sup>42</sup>

Tärkeimpänä tekijänä asetaalisuojauksen pysyvyyden kannalta voidaan pitää substituenttien määrää asetaalin keskushiilessä. Jos keskushiilessä on kaksi protonia (MEM, MOM, SEM, BOM), on suojaryhmä stabiilimpi, sillä karbokationin muodostuminen ei ole edullista stabiloivien substituenttien puuttuessa. Tällöin myöskään yleinen happokatalyysi ei ole todennäköinen. Jos taas asetaalisuojaryhmän keskushiilessä on 1-2 alkyyli ryhmää tai muuta elektropositiivista ryhmää (EE, MIP, THP), on suojaryhmä helpommin hydrolysoituva ja alttiimpi myös yleiselle happokatalyysille, sillä muodostuva karbokationi on pysyvämpi.

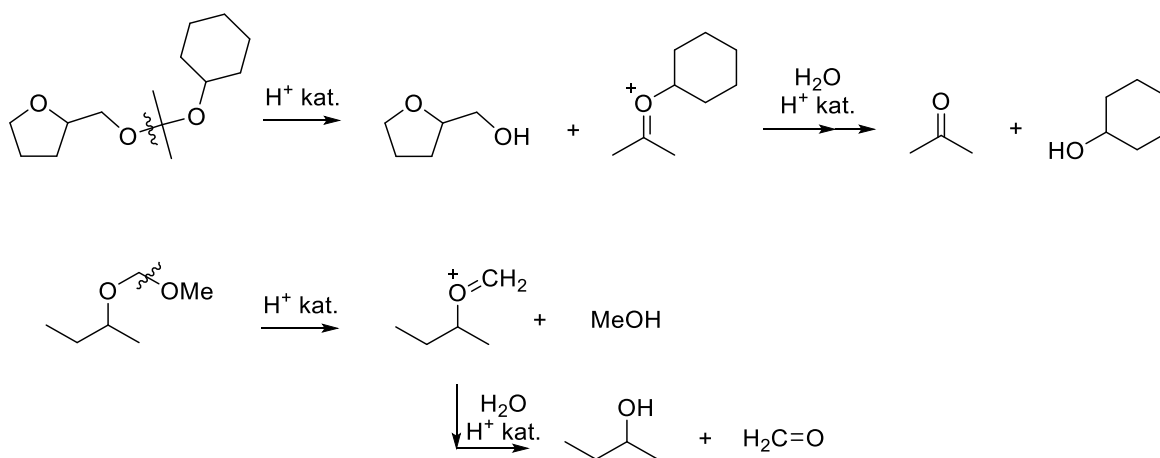
Asetaalisuojatut yhdisteet ovat epäsymmetrisiä asetaaleja, minkä seurauksena hydrolyysissä kilpailee kaksi rinnakkaista reaktiota.<sup>15</sup> Suojaryhmä voi irrota kokonaisena tai pilkkoutua irti kahdessa osassa, kuten kaaviossa 4 esitettyä MIP-suojauksen hydrolyysissä.



**Kaavio 4.** Alkoholin MIP-suojaus ja suojauksen poiston kaksi vaihtoehtoista hydrolyysireittiä.

P. Salomaan tutkimuksen mukaan pääsääntöisesti karbokationia paremmin stabiloiva ryhmä jää yhdisteeseen ja alkoksiryhmä, jossa on elektroneja puoleensa vetäviä substituentteja, irtoaa ensimmäisenä.<sup>15</sup> Suojaryhmien kannalta on oleellista tietää, kumpi C-O-sidoksista katkeaa ensimmäisenä, sillä lähtevän ja jäävän alkoksiryhmän ominaisuudet vaikuttavat asetaalin stabiilisuuteen vastakkaisilla tavoilla.<sup>15</sup>

Kaaviossa 5 on esitetty kahden erilaisen asetaalisuojauksen todennäköiset hydrolyysimekanismit. Jos suojatussa alkoholissa on elektroneja puoleensa vetävä ryhmä lähellä hydroksyyli ryhmää, ja suojaryhmän alkoksiryhmän substituentti on puolestaan elektroneja luovuttava, on todennäköistä, että suojattu alkoholi irtoaa ensimmäisenä (kaavio 5, sykloheksyylioksi-isopropyyლისuojauksen hydrolyysi). Jos taas suojattu alkoholi on sekundäärinen, eikä lähellä ole elektronegatiivisia substituentteja, ja suojaryhmän alkoksiryhmässä puolestaan on elektroneja puoleensa vetävä tai pienikokoinen substituentti, on todennäköisempää, että ensimmäisenä katkeaa suojaryhmän alkyylin ja hapen välinen sidos (kaavio 5, MOM-suojaus).<sup>15</sup>



**Kaavio 5.** Esimerkit sykloheksyylioksi-isopropyyლისuojauksen (raportoitu ensimmäisen kerran tämän tutkielman kokeellisessa osassa) sekä MOM-suojauksen todennäköisistä<sup>15</sup> hydrolyysimekanismeista. Sykloheksyylioksi-isopropyyლისuojaus (yllä) irtoaa suojatusta alkoholista kokonaisuena, sillä sykloheksyylioksiryhmä stabiloi muodostuvaa karbokationia, ja suojatussa alkoholissa puolestaan on elektroneja puoleensa vetävä happiatomi lähellä hydroksyyli ryhmää. MOM-suojaus (alla) pilkkoutuu kahdessa osassa, sillä pienikokoinen MeOH on hyvä lähtevä ryhmä ja suojatun alkoholin sekundäärinen alkoksiryhmä stabiloi karbokationia paremmin.<sup>15</sup>

Asetaalien happiatomien emäksisyyksiä vertaamalla on siis mahdollista arvioida, kumpi alkoksiryhmistä on parempi lähtevä ryhmä ja kumpi stabiloi karbokationia paremmin. A. Kankaanperä on selvittänyt symmetristen ja epäsymmetristen asetaalien  $pK_a$ -arvoja useissa tutkimuksissa vuonna 1969.<sup>14,19,21,43</sup>



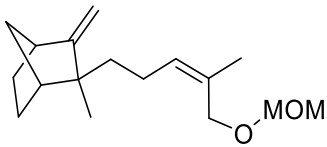
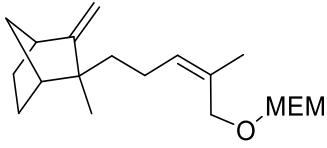
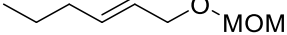
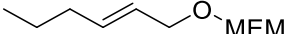
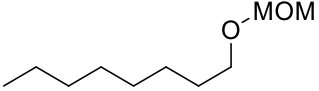
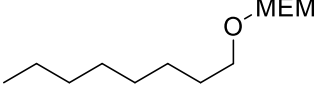
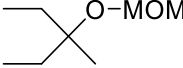
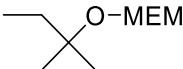
## ***4.2 Suojaryhmien vertailu ja hydrolyyysiosuhteiden vaikutukset***

Asetaalisuojaryhmien stabiilisuuksia voidaan verrata keskenään tarkastelemalla suojaryhmien ja asetaalisuojattujen alkoholien rakenteita sekä hydrolyysissä muodostuvien karbokationien pysyvyyksiä, kuten kappaleissa 3.2 ja 3.3. Suojausten poistossa kuitenkin myös olosuhteilla, kuten liuottimella ja käytetyllä happokatalyytillä, on erittäin suuri merkitys.

MOM- ja MEM-suojauksen välillä on ainoastaan pieni pysyvyysero. Rakenteen perusteella MEM on hieman labiilimpi, sillä P. Salomaan tutkimuksen mukaan MEM-suojauksesta lähtevä elektronegatiivisempi 2-metoksietanoli irtoaa 1,53 kertaa nopeammin kuin MOM-suojauksesta irtoava metanoli.<sup>15</sup> H. Montin ryhmän tutkimuksesta<sup>44</sup> voidaan kuitenkin havaita, että käytetyllä liuottimella, sekä myös suojatun alkoholin rakenteella, on yllättävän suuri vaikutus MEM- ja MOM-suojauksen stabiilisuuksiin ja siihen, kumpi suojauksista irtoaa nopeammin (taulukko 4).

Taulukosta 4 voidaan nähdä, että kahden pysyvyydeltään hyvin samanlaisen asetaalisuojaryhmän vertaaminen ainoastaan suojaryhmän rakenteen perusteella on mahdotonta, sillä sekä jäävä alkoksiryhmä, että käytetty liuotin vaikuttavat suojaryhmien pysyvyyseroon. Allyylinen MOM-suojaus hydrolysoituu nopeasti (2 h) kun liuottimena on tert-butanoli, ja suojattu alkoholi on suurikokoinen, kun puolestaan vastaava MEM-suojaus hydrolysoituu samassa liuottimessa selvästi hitaammin (9,5 h). Kun liuotin vaihdetaan butanoniin, suojaryhmien pysyvyydet vaihtuvat päinvastaisiksi, ja MOM-suojauksesta tulee MEM-suojauksista pysyvämpi. Liuottimen vaihto vaikuttaa kyseisellä alkoholilla kuitenkin selvästi enemmän MOM-suojauksen pysyvyyteen, jonka hydrolyysiaika kasvaa 2 tunnista 12,5 tuntiin, kuin MEM-suojaukseen, jonka hydrolyysiaika lyhenee ainoastaan tunnilla. Liuotin ei kuitenkaan vaikuta kaikilla allyylisillä alkoholeilla samalla tavalla. Toisen, suoraketjuisen allyylisen alkoholin hydrolyysiajoista voidaan havaita, että molempien suojaryhmien hydrolyysiajat (3 h 15 min ja 2 h tert-butanolissa sekä 10 h ja 11 h butanonissa) ovat hyvin lähellä toisiaan molemmissa liuottimissa.

**Taulukko 4.** MOM- ja MEM-suojattujen alkoholien hydrolyysiaikoja kahdessa eri liuottimessa.<sup>44</sup>

Suojattu yhdiste	PPTS/tBuOH, hydrolyysiaika	PPTS/butanoni, hydrolyysiaika
	2 h	12,5 h
	9,5 h	8,5 h
	3 h 15 min	10 h
	2 h	11 h
	5h 45 min	7h 15 min
	3,5 h	8,5 h
	1 h	3 h
	3 h	8 h

P. Salomaan tutkimus<sup>15</sup> perustuu oletukseen, jonka mukaan asetaalin jäävällä alkoksiryhmällä ei ole merkitystä, kun kahta erilaista lähtevää alkoksiryhmää verrataan keskenään. H. Montin ryhmän tutkimuksen<sup>44</sup> perusteella kyseinen oletus ei kuitenkaan ole paikkansapitävä kaikissa olosuhteissa. Todennäköisesti ero johtuu siitä, että P. Salomaan tutkimuksessa hydrolyysit on suoritettu HCl-vesiliuoksissa, kun puolestaan H. Montin tutkimuksessa liuottimina on käytetty poolisuudeltaan hyvin paljon vedestä poikkeavia tert-butanolia ja butanonia. P. Salomaan tutkimuksen arvioita formaldehydin epäsymmetristen asetaalien hydrolyysinopeuksista voidaan siis hyödyntää luotettavasti ainoastaan vesiliuoksissa tapahtuvien hydrolyysien vertailussa, erityisesti silloin, kun suojaryhmien stabiilisuudet ovat lähellä toisiaan.

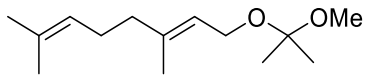
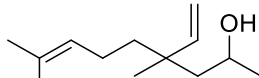
Kuten taulukosta 4 voitiin havaita, myös rakenteen perusteella stabiilimman asetaalisuojaryhmän selektiivinen poistaminen labiilimman asetaalisuojaryhmän läsnäollessa on mahdollista oikeiden reagenssien ja liuottimien avulla. Taulukkoon 5 on kerätty esimerkkejä selektiivisistä reagensseista asetaalisuojausten poistossa.

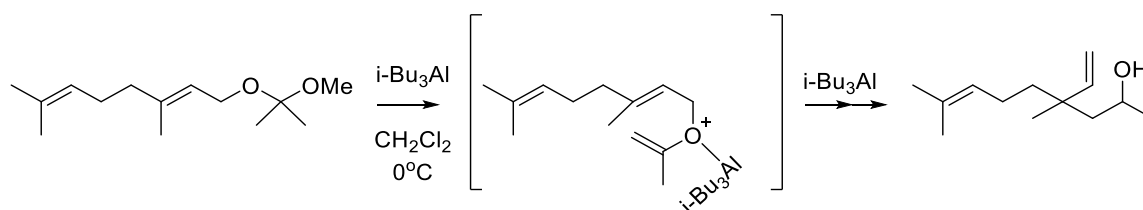
**Taulukko 5.** Asetaalien poiston selektiivisiä reagensseja.

Reagenssi	Irtoavat suojaryhmät	Säilyvät suojaryhmät	Tutkimus
MgBr <sub>2</sub>	THP, MOM	MEM	S. Kim <i>et al.</i> <sup>45</sup>
CeCl <sub>3</sub> •7 H <sub>2</sub> O	MEM	MOM, BOM, THP	G. Sabitha <i>et al.</i> <sup>46</sup>
Magtrieve <sup>TM</sup> (CrO <sub>2</sub> )	EE, MIP	THP, MOM, MEM	S.-T. Park ja K.-Y. Ko <sup>47</sup>
ZnBr <sub>2</sub>	allyylinen MEM	MOM, ei-allyylinen MEM	H. Monti <i>et al.</i> <sup>44</sup>
InI <sub>3</sub> , EtOAc	sekundäärinen ja fenolinen THP/MOM	primäärinen THP/MOM muuttuu asetaatiksi	B. C. Ranu ja A. Hajra <sup>48,49</sup>
1,5% HCl/MeOH	SEM	MEM	B. M. Pinto <i>et al.</i> <sup>50</sup>
TMSOTf, 2,2'-bipyridiini	MOM, MEM, BOM, SEM	fenolinen MOM	H. Fujioka <i>et al.</i> <sup>51</sup>

Asetaalisuojaryhmien muuttaminen toiseksi asetaalisuojaukseksi tai asetaatiksi on myös mahdollista. Lisäksi asetaalisuojaryhmät saattavat joissain tapauksissa reagoida yllättävällä tavalla. Esimerkiksi S. D. Rychnovsky ja J. L. Lee ovat havainneet, että useilla allyylisillä MIP-suojatuilla alkoholeilla tapahtuu Claisen-toisiintuminen, kun yhdisteen annetaan reagoida  $i\text{-Bu}_3\text{Al}$ :n kanssa (kaavio 6).<sup>52</sup> Taulukossa 6 on esitetty reagensseja, joiden avulla asetaalisuojaryhmien muuttaminen toiseksi ryhmäksi on mahdollista.

**Taulukko 6.** Esimerkkejä reagensseista, joilla asetaalisuojaryhmiä voidaan muuttaa toisiksi ryhmiksi.

Reagenssi	Alkuperäinen suojaryhmä	Uusi ryhmä	Tutkimus
TMSOTf, 2,2'-bipyridiini + sopiva alkoholi	MOM	BOM, SEM	H. Fujioka <i>et al.</i> <sup>51</sup>
ZrCl <sub>4</sub>	THP	MOM	G. V. M. Sharma <i>et al.</i> <sup>53</sup>
InI <sub>3</sub> , EtOAc	primäärinen THP/MOM	asetatti	B. C. Ranu ja A. Hajra <sup>48,49</sup>
FeCl <sub>3</sub> , Ac <sub>2</sub> O	MOM	asetatti	M. P. Bosch <i>et al.</i> <sup>54</sup>
$i\text{-Bu}_3\text{Al}$	 (MIP)	 Claisen-toisiintumisen tuote	S. D. Rychnovsky ja J. L. Lee <sup>52</sup>



**Kaavio 6.** MIP-suojatun allyylisen alkoholin Claisen-toisiintuminen.<sup>52</sup>

## 5 Yhteenveto

Asetaalien hydrolyysin mekanismiin ja nopeuteen vaikuttavat sekä asetaalin rakenne, kuten keskushiilen ja alkoksiryhmien substituentit, että hydrolyysiolosuhteet, kuten käytetty katalyytti ja liuotin. Asetaalisuojaryhmillä myös suojatun alkoholin rakenne vaikuttaa suojaryhmän stabiilisuuteen.

Uusia asetaalisuojaryhmiä kehitettäessä epäsymmetristen asetaalien hydrolyysimekanismien tunteminen on tärkeää, jotta uusien suojaryhmien stabiilisuuksia on mahdollista ennakoida, sillä epäsymmetrisillä asetaaleilla, kuten asetaalisuojaryhmillä, on kaksi mahdollista irtoavaa alkoksiryhmää jotka kilpailevat hydrolyysissä. Lähtevän ja jäävän alkoksiryhmän substituentit vaikuttavat asetaalin hydrolyysinopeuteen vastakkaisilla tavoilla. Elektronegatiiviset substituentit jäävässä alkoksiryhmässä hidastavat hydrolyysiiä, kun puolestaan lähtevässä ryhmässä ne nopeuttavat reaktiota.

Asetaalisuojaryhmien pysyvyysjärjestys ei ole aina sama kaikissa olosuhteissa, minkä vuoksi asetaalisuojausten stabiilisuuksia eri liuottimissa on hyvin vaikea ennakoida, erityisesti jos suojaryhmien stabiilisuusero on pieni. Asetaalien rakenteen vaikutusten tunteminen auttaa kuitenkin asetaalisuojaryhmien pysyvyyserojen arvioinnissa.

# KOKEELLINEN OSA

## 6 Johdanto

MIP- eli metoksi-isopropyli on tunnettu asetaalisuojaryhmä, joka hydrolysoituu helposti laimeissakin happo-olosuhteissa. MIP-suojaus irtoaa jopa kromatografisessa puhdistuksessa silikapylväällä, jos eluentin joukkoon ei lisätä pientä määrää emästä, kuten TEA:a.<sup>55</sup> Emäksisiä oloja MIP-suojaus puolestaan kestää hyvin.

Tämän tutkimuksen tarkoituksena oli selvittää, voisiko hydroksyyli-ryhmien suojauksessa käyttää MIP-suojaukseen käytetyn 2-metoksi-*propeenin* sijaan toista 2-alkoksi-*propeenin*, jossa alkyyliryhmä olisi hieman metyyliä suurempi, sekä tutkia miten alkoksiryhmän vaihtaminen vaikuttaa muodostetun suojaryhmän stabiilisuuteen. Mukaiyama tutkimusryhmineen ovat aikaisemmin syntetisoineet MIP-suojaukseen perustuvan bentsyylioksi-isopropyylisuojauksen ja tutkineet sen stabiilisuutta.<sup>56</sup> Tässä työssä valittiin syntetisoitavaksi myös kyseinen bentsyylioksi-isopropyylisuojaus, ja lisäksi uudenlainen sykloheksyylioksi-isopropyylisuojaus. Lopuksi näiden kahden sekä MIP-suojauksen stabiilisuutta tutkittiin erilaisissa happoliuoksissa.

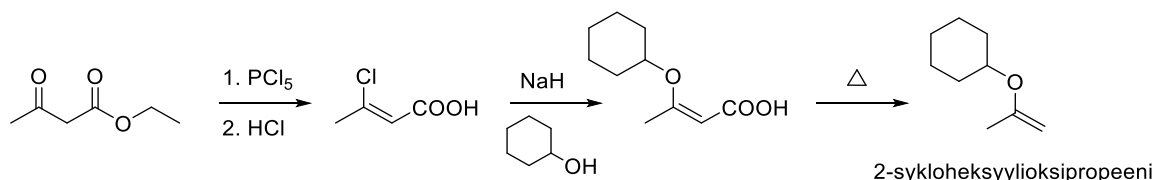
Tutkimuksen tavoitteena oli kehittää uudenlaisia suojaryhmiä erityisesti nukleosidien (primäärisille) 5'-hydroksyyli-ryhmille. Mukaiyaman ryhmän tutkimuksen<sup>56</sup> mukaan 2-bentsyylioksi-*propeeni* reagoi selektiivisesti, 95 % saannolla, primääristen alkoholien kanssa, ja alkoholin suojaus sekä suojauksen poisto onnistuvat molemmat neutraaleissa oloissa. Nämä ominaisuudet tekevät suojauksesta erityisen mielenkiintoisen vaihtoehdon nukleosideille; oligonukleotidisynteesissä suojausten täytyy olla helposti liitettävissä ja poistettavissa ilman vahvoja happoja tai emäksiä, koska nukleotidit sisältävät monenlaisia funktionaalisia ryhmiä, joista jokainen on herkkä erilaisille olosuhteille.<sup>57</sup> Lisäksi saantojen täytyy olla mahdollisimman hyviä, jotta suurikokoisten oligonukleotidien synteesi on mahdollista.

## 7 Tulokset ja tulosten tarkastelu

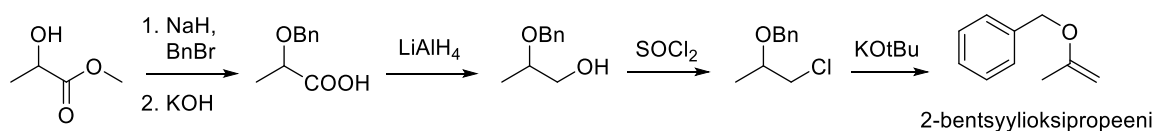
### 7.1 2-Alkoksipropeenien synteetit

Työssä valmistettiin kaksi erilaista 2-alkoksipropeenaa, 2-sykloheksyylioksipropeeni sekä 2-bentsyylioksipropeeni. Näitä kahta alkoksipropeenaa käytettiin MIP-suojauksen tavoin 3'-*O*-bentsoyylitymidiinin 5'-hydroksyyli ryhmän suojaamiseen. Suojauksen jälkeen bentsoyylisuojarahmät poistettiin ja 5'-*O*-alkoksi-isopropyylylitymidiinien, sekä vertailuna 5'-*O*-MIP-tymidiinin, stabiilisuutta tutkittiin erilaisissa happo-olosuhteissa TLC:n avulla. Sykloheksyylioksi-isopropyyli suojaauksen havaittiin olevan selvästi labiilimpi verrattuna bentsyylioksi-isopropyyli- ja MIP-suojarahmiin. Bentsyylioksi-isopropyyli suojaauksen ja MIP-suojaauksen välillä ei havaittu selkeää stabiilisuuseroa.

2-Sykloheksyylioksipropeenin synteetin (kaavio 7) lähtöaine oli etyyliasetoasetaatti (synteesireitti A). 2-Bentsyylioksipropeenin synteesissä (kaavio 8) lähtöaineena käytettiin (-)-metyyli-L-laktaattia (synteesireitti B).



**Kaavio 7.** Synteesireitti A. 2-sykloheksyylioksipropeenin valmistus.<sup>58,59</sup>



**Kaavio 8.** Synteesireitti B. 2-bentsyylioksipropeenin valmistus.<sup>56,60,61</sup>

Synteesireitti A:n kokonaissaanto (noin 10 %) oli pienempi kuin synteesireitti B:n (noin 35 %). Kloorauksen, HCl-hydrolyysin sekä sykloheksyylioksiryhmän liittämisen reaktioiden saannot olivat ainoastaan noin 50 %. Viimeisen vaiheen, dekarboksylaation saanto oli hieman parempi, noin 80 %. 2-bentsyylioksi-propeenin synteesissä (synteesireitti B) reaktioiden saannot olivat 60–90 % ja kokonaissaanto siten parempi.

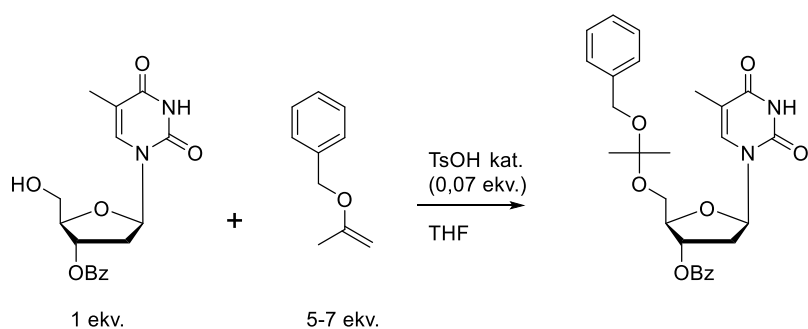
Synteesireitissä A sykloheksanolin tilalla voidaan käyttää monia muitakin alkoholeja<sup>59</sup>, eli sykloheksyylioksiryhmä voidaan helposti vaihtaa toiseen alkoksiryhmään. Reitti A sopii hyvin sellaisille 2-alkoksi-propeeneille, joiden alkoksiryhmä (alkoksidi-ioni) on hyvä nukleofiili mutta vastaava alkyylibromidi olisi huono elektrofiili, kuten sekundäärinen sykloheksyylibromidi. Synteesireitti B soveltuu puolestaan sellaisille 2-alkoksi-propeeneille, joiden alkyyliryhmää vastaava alkyylibromidi on hyvä elektrofiili, kuten primäärinen BnBr. Reitit siis täydentävät toisiaan, sillä reitin A mekanismi on päinvastainen reittiin B verrattuna. Reitissä A alkoksiryhmä toimii nukleofiilina, kun puolestaan reitissä B alkyyliryhmä toimii elektrofiilina.

2-Alkoksi-propeenien synteesien kokonaissaannot jäivät pieniksi ja synteesireittejä täytyy sen vuoksi vielä kehittää. Synteesien hyvä puoli oli kuitenkin se, ettei välituotteita tarvinnut puhdistaa, vaan tuotteet olivat NMR-spektrien perusteella riittävän puhtaita jo uuttojen jälkeen. Kromatografinen puhdistus kuluttaa suuria määriä liuottimia sekä aikaa, joten puhdistusten välttäminen on todellinen etu monivaiheisissa synteesissä.



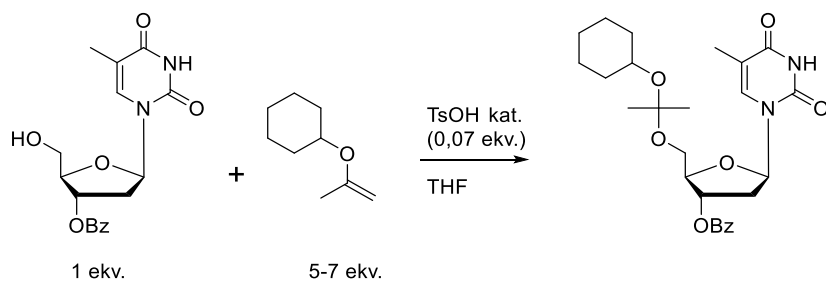
## 7.2 Alkoksi-isopropyylisuojauskset

3'-*O*-Bz-tymidiinin 5'-hydroksyyli ryhmän alkoksi-isopropyylisuojauskset onnistuivat hyvin oikeiden olosuhteiden löydyttyä (kaaviot 8 ja 9).



**Kaavio 8.** Suojaus 2-bentsyylioksiisopropeenilla.<sup>56</sup>

Katalyytin määrä optimoitu M. M. E. Delvillen ryhmän tutkimuksen<sup>62</sup> avulla.



**Kaavio 9.** Suojaus 2-sykloheksyylioksiisopropeenilla.

Katalyytin määrä optimoitu M. M. E. Delvillen ryhmän tutkimuksen<sup>62</sup> avulla.

Aluksi katalyyttina kokeiltiin Pd(OAc)<sub>2</sub>-katalyyttia, mutta reaktio ei lähtenyt käyntiin ilman toisen katalyytin, TsOH:n lisäystä. Reaktio ei kuitenkaan edennyt TLC:n perusteella tarpeeksi edes TsOH:n lisäyksen jälkeen, minkä jälkeen päätettiin kokeilla uusia olosuhteita. M. M. E. Delville tutkimusryhmineen ovat selvittäneet MIP-suojauksen optimaalisia olosuhteita<sup>62</sup>, joten artikkeliin pohjautuen valittiin uusiksi olosuhteiksi suurempi määrä alkoksipropeenaa (7 ekv.), pienempi määrä TsOH-katalyyttia (0,07 ekv.) sekä lämmitys 45 °C:een. Liuottimena reaktiossa käytettiin kuivaa THF:a. Lisäksi seokseen lisättiin MgSO<sub>4</sub>:a kuivausaineeksi. Reaktioajaksi riitti 5 minuuttia.

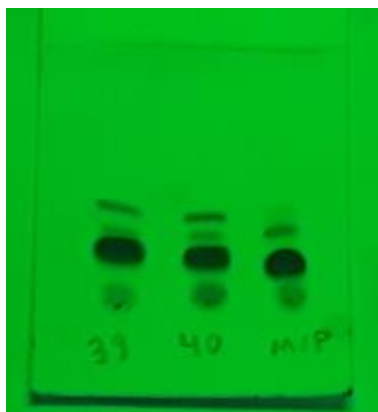
Ensimmäisellä kokeilulla alkoksipropeenin määrä oli hieman suurempi (7 ekv.) kuin seuraavissa reaktioissa (5 ekv.). Seuraavat reaktiot eivät edenneet TLC:n perusteella täysin loppuun asti, mutta kuitenkin selvästi tuotteen puolelle. 7 ekvivalentilla alkoksipropeenaa reaktio onnistuisi siis todennäköisesti paremmin<sup>62</sup>, mutta 5 ekvivalenttia on riittävä määrä, jos alkoksipropeenaa halutaan käyttää mahdollisimman säästeliäästi.

Happokatalyytin määrä oli erittäin tärkeä reaktion onnistumisen kannalta. Liian suuri katalyytin määrä aiheutti reaktiotasapainon kääntymisen takaisin lähtöaineiden puolelle, mutta liian pienellä määrällä reaktio ei lähtenyt käyntiin. 0,07 ekv. havaittiin olevan sopiva katalyyttimäärä (22 mg TsOH-katalyyttiä, kun 3'-O-Bz-tymidiiniä oli 610 mg ja THF:a 10 ml).

Viimeisellä kerralla reaktioseoksesta otettiin näyte jo ennen lämmityksen aloittamista, ja tuotteen havaittiin jo muodostuneen. Lämmitystä ei siis todennäköisesti tarvita, ainakaan muutaman gramman reaktioissa. Lämmitys voi nopeuttaa reaktiota, jos reaktio on hidas. Tämän työn suojaukset tapahtuivat kuitenkin hyvin nopeasti, 5–15 minuutissa.

### 7.3 Stabiilisuuskokeet

Suojausten jälkeen tuotteet puhdistettiin kromatografisesti ja 3'-*O*-Bz-suojaukset poistettiin ammonolyysillä. Alkoksi-isopropyylisuojauskset kestivät hyvin ammonolyysin voimakkaan emäksisiä olosuhteita (kuva 6).

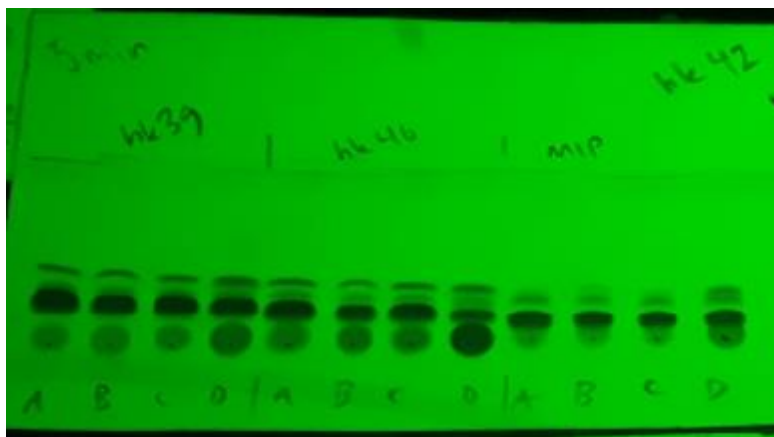


**Kuva 6.** Alkutilanne ennen happolisäystä. Vasemmalla bentsyylioksi-isopropyylisuojattu, keskellä sykloheksyylioksi-isopropyylisuojattu ja oikealla MIP-suojattu tymidiini. Näytteet sisälsivät pienen määrän tymidiiniä (alin täplä) ja muita sivutuotteita jo ennen happolisäystä, sillä tuotteita ei puhdistettu ammonolyysin jälkeen.

5'-*O*-suojausten stabiilisuutta tutkittiin neljässä erilaisessa happoliuoksessa:

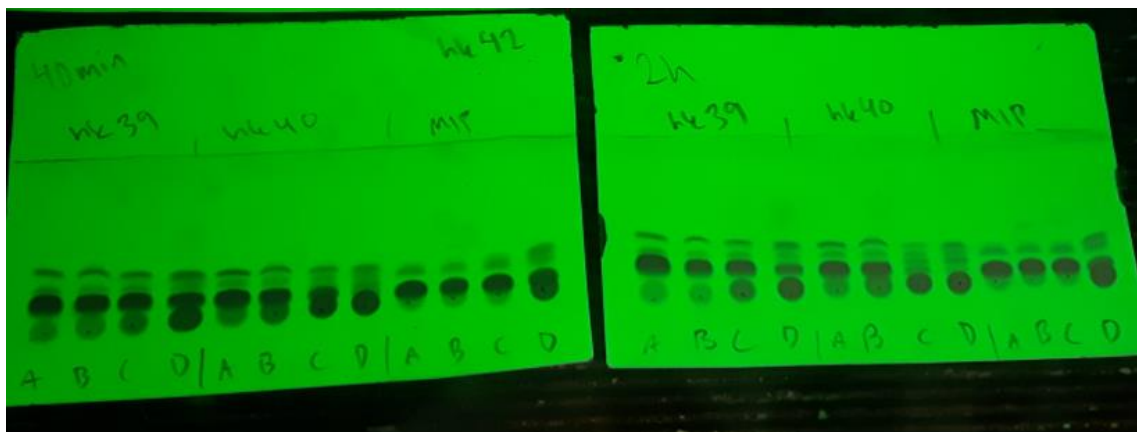
- A) 0,01 M AcOH/THF
- B) 0,1 M AcOH/THF
- C) 0,001 M lutidiinium-p-tolueenisulfonaatti-vesiliuos/THF
- D) 0,01 M lutidiinium-p-tolueenisulfonaatti-vesiliuos/THF

Näytteistä ajettiin TLC 5 minuutin kuluttua happolisäyksestä, jolloin havaittiin, että sykloheksyylioksi-isopropyyლისuojaus oli hajonnut jo selvästi tymidiiniksi D-näytteessä (kuva 7). Kaikki suojaukset alkoivat hajota ensimmäiseksi D-näytteissä, mutta 5'-*O*-bentsyylioksi-isopropyyli- ja MIP-suojaukset selvästi hitaammin kuin sykloheksyylioksi-isopropyyლისuojaus.



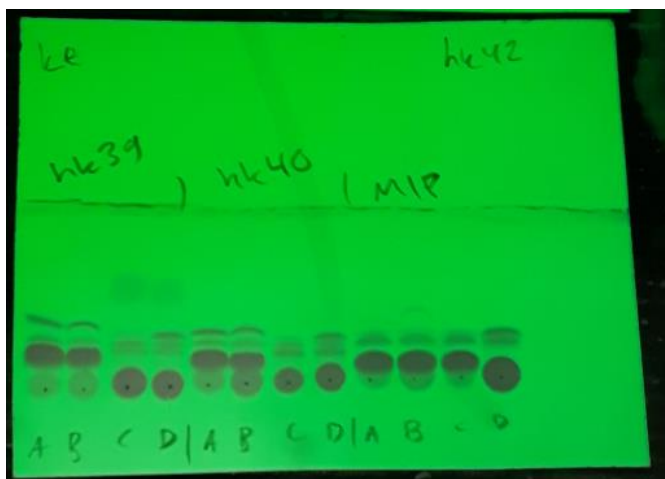
**Kuva 7.** TLC-ajo 5 minuutin jälkeen happolisäyksestä. Vasemmalla bentsyylioksi-isopropyyლისuojattu (hk39, 4 näytettä, A, B, C ja D), keskellä sykloheksyylioksi-isopropyyლისuojattu (hk40) (D-näyte hajonnut jo selvästi) ja oikealla MIP-suojattu tymidiini. Pieni määrä tymidiiniä näkyvissä jokaisessa näytteessä (alin täplä), sillä tuotteita ei puhdistettu ammonolyysin jälkeen.

Yllättävästi kaikki näytteet kestivät selvästi paremmin (kuva 8) etikkahappoa (A- ja B-näytteet) kuin lutidiinium-p-tolueenisulfonaattia (C- ja D-näytteet), vaikka pH-paperilla mitattaessa B- ja D-näytteet olivat hyvin lähellä toisiaan (hyvin lievästi happamia) ja etikkahaponäyte (B) aavistuksen lutidiinium-p-tolueenisulfonaattinäytettä (D) happamampi. Sykloheksyylioksi-isopropyyli-suojaus hajosi hieman etikkahaponäytteissä, mutta selvästi vähemmän kuin lutidiinium-p-tolueenisulfonaattinäytteissä.



**Kuva 8.** TLC-ajot 40 min (vasen) ja 2 h (oikea) jälkeen happolisäyksestä.

Bentsyylioksi-isopropyli- ja MIP-suojauksilla havaittiin selvä ero ainoastaan C-näytteissä. 5 vuorokautta huoneenlämmössä olleista näytteistä mitattiin uusi TLC (kuva 9), josta havaittiin bentsyylioksi-isopropyylisuojaus hajooneen lähes täysin, mutta MIP-suojauksen säilyneen lähes hajoamatta. Etikkahappo-näytteissä puolestaan ei havaittu eroa.



**Kuva 9.** TLC-ajo 5 vuorokauden kuluttua happolisäyksestä. Bentsyylioksi-isopropyylisuojaus selvästi hajoanut C-näytteessä, MIP-suojaus puolestaan säilynyt hajoamatta.

Stabiilisuustestit tehtiin kahdella näyte-erällä ja tulokset vastasivat toisiaan. Lutidiinium-p-tolueenisulfonaatti-näytteiden nopeasta hajoamisesta voidaan päätellä, että lutidiinium-p-tolueenisulfonaatti on selvästi etikkahappoa parempi katalyytti suojausten poistamisessa, ja reaktio onnistuu siten myös erittäin laimeissa, lähes neutraaleissa olosuhteissa.

G. Just ryhmineen ovat aikaisemmin tehneet MIP-suojauksen poiston katalyyttisellä määrällä pyridiinium-p-tolueenisulfonaattia (PPTS) (0,005 M PPTS-MeOH-liuos, 5 °C, 1h).<sup>63</sup> PPTS on heikompi happo kuin etikkahappo (1 M etikkahapon vesiliuoksen pH=2,4, PPTS:lla vastaavan liuoksen pH=3,0),<sup>41</sup> ja pyridiinium-p-tolueenisulfonaatin rakenne on lähellä lutidiinium-p-tolueenisulfonaattia. Pyridiinin  $pK_a=5,25$  ja 2,6-lutidiinin  $pK_a=6,60$ ,<sup>64</sup> joten lutidiinium-p-tolueenisulfonaatti on pyridiinium-p-tolueenisulfonaattia heikompi happo, ja siten myös etikkahappoa heikompi happo. Kyseinen tutkimus vahvistaa siis havainnon, että pienikin määrä lutidiinium-p-tolueenisulfonaattia riittää suojauksen poistoon, vaikka lutidiinium-p-tolueenisulfonaatti on etikkahappoa heikompi happo.

## 7.4 Jatkotutkimukset ja päätelmät

Tutkimusta on jatkettu tarkemmilla menetelmillä ja erilaisilla happoliuoksilla. Myös liuottimien vaikutusta hydrolyysinopeuteen on tutkittu. Lukas Enders selvitti tutkimusharjoittelussaan suojaryhmien puoliintumisaikoja erilaisissa puskuriliuoksissa (taulukko 7) HPLC:n avulla, ja tutkimukset vahvistavat, että sykloheksyylioksi-isopropyyliisuojaus hydrolyysin puoliintumisajat ovat selvästi kahta muuta suojaryhmää lyhyempiä (taulukko 8).<sup>65</sup> MIP-suojaus ja bentsyylioksi-isopropyyli-suojaus välillä stabiilisuusero on hyvin pieni, kuten myös TLC:llä voitiin havaita tämän työn stabiilisuuskokeissa. L. Endersin tutkimuksessa kuitenkin bentsyylioksi-isopropyyliisuojaus puoliintumisaika on hieman suurempi, kun TLC:llä puolestaan MIP-suojaus havaittiin olevan hieman stabiilimpi. Kyseinen ilmiö johtuu siitä, että tutkimuksissa käytetyt liuottimet olivat erilaiset. L. Enders suoritti HPLC-mittaukset puskuroiduissa vesiliuoksissa, kun puolestaan tässä työssä stabiilisuuskokeet tehtiin THF-liuoksissa, joihin lisättiin ainoastaan pieni määrä haluttua happo-vesiliuosta. Tutkimuksista voidaan siis havaita myös liuottimen vaikutus hydrolyysinopeuteen.

**Taulukko 7.** Käytetyt puskuriliuokset.<sup>65</sup>

	pH = 4,94	pH = 5,61	pH = 6,82
Puskuri	Asetaatti	Sitraatti	Fosfaatti
Ionivahvuus	0,3	0,3	0,3
Konsentraatio (mol/L)	0,08	0,05	0,05

**Taulukko 8.** Asetaalisuojaryhmien puoliintumisajat eri puskuriliuoksissa.<sup>65</sup>

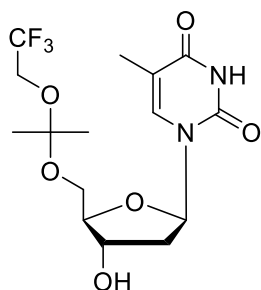
Suojaryhmä	pH = 4,94	pH = 5,61	pH = 6,82
MIP	6,08 min	28,17 min	7,05 h
Bentsyylioksi-isopropyyli	9,39 min	47,48 min	12,14 h
Sykloheksyylioksi-isopropyyli	47,8 s	3,18 min	56,21 min

Kalle J. Ouwehand jatkoi tutkimusta tutkimusharjoittelussaan selvittämällä tarkemmin erilaisten orgaanisten liuottimien vaikutusta hydrolyysinopeuksiin (taulukko 9).<sup>66</sup> Tutkimuksesta voidaan havaita, että liuottimella, sekä myös käytetyllä hapolla, on suuri vaikutus asetaalisuojaryhmien hydrolyysiaikoihin.

**Taulukko 9.** Asetaalisuojaryhmien puoliintumisaikoja erilaisissa orgaanisissa liuottimissa. Happojen pitoisuudet liuoksissa 3 vol-%.<sup>66</sup>

Suojaryhmä	Dikloori-etikkahappo, Dioksaani	Etikkahappo, Dioksaani	Etikkahappo, Asetonitrili	Etikkahappo, Metanoli
MIP	1 h 20 min	26 vrk	51,5 min	5,1 min
Sykloheksyylioksi-isopropyyli	5,2 min	2 vrk	3,9 min	liian nopea mitattavaksi tällä menetelmällä
Bentsyylioksi-isopropyyli	1 h 58 min	(ei mitattu)	(ei mitattu)	(ei mitattu)

Lisäksi tämän tutkielman ohjaajan, Petri Heinosen ryhmä syntetisoi uuden suojaryhmän, trifluorietoksi-isopropyylisuojaus (kuva 10) 2-sykloheksyylioksi-propeenin synteesireitin avulla (synteesireitti A), ja K. J. Ouwehand selvitti kyseisen suojaryhmän puoliintumisajat samoilla puskuriliuoksilla ja menetelmällä kuin L. Enders (taulukko 10).<sup>66</sup>



**Kuva 10.** 5'-O-trifluorietoksi-isopropyylitymidiini.



**Taulukko 10.** Trifluorietoksi-isopropyylin puoliintumisajat eri puskuriliuoksissa.<sup>66</sup>

pH = 4,96	pH = 5,70	pH = 6,85
3,2 h	13,2 h	8 vrk

Trifluorietoksi-isopropyylisuojauspuoliintumisajoista voidaan havaita, että kyseinen suojaryhmä on selvästi kaikista stabiilein tässä työssä esitetyistä asetaalisuojaryhmistä. Elektronegatiivisen trifluorietoksiryhmän stabiloivasta vaikutuksesta voidaan päätellä, että hydrolyysissä muodostuva karbokationi on tällöin pysymättömämpi kuin muilla tässä työssä esitetyillä suojaryhmillä. Tässä työssä syntetisoidut suojaryhmät hydrolysoituvat todennäköisimmin siten, että tymidiinin hapen ja suojaryhmän hiilen välinen sidos katkeaa ensimmäisenä, jolloin elektropositiiviset substituentit suojaryhmän alkoksiryhmässä stabiloivat muodostuvaa karbokationia ja nopeuttavat siten hydrolyysiä. 5'-*O*-trifluorietoksi-isopropyylitymidiinin hydrolyysin mekanismi ei kuitenkaan ole yhtä selkeä, sillä molemmissa alkoksiryhmissä on elektroneja puoleensa vetävä substituentti lähellä happiatomia. Todennäköisesti 5'-*O*-trifluorietoksi-isopropyylitymidiinin hydrolyysissä ensimmäisenä irtoaa elektronegatiivisempi alkoksiryhmä, trifluorietanoli (kts. s.17 taulukko 2). Jäävässä alkoksiryhmässä, eli tymidiinissä, on kuitenkin myös elektroneja puoleensa vetävä happiatomi lähellä muodostuvaa karbokationia, minkä seurauksena kyseinen karbokationi on pysymättömämpi kuin tässä työssä syntetisoiduilla suojaryhmillä, joilla hydrolyysissä muodostuvaa karbokationia stabiloivat elektropositiiviset sykloheksyylioksi-, bentsyylioksi- ja metoksiryhmät.

## 8 Menetelmät

### 8.1 Yleiset menetelmät

Reaktioita seurattiin TLC:n avulla. Ajoliuoksena käytettiin pääasiassa 5 % MeOH / DCM:a. 2-Bentsyylioksi-1-klooripropaanin synteesin seurannassa ajoliuos oli DCM. NMR-spektrit mitattiin Varian Mercury Plus 300 MHz ja Varian Inova Unity 500 MHz -spektrometreillä. Liuottimina NMR-mittauksissa käytettiin  $\text{CDCl}_3$ :a,  $\text{DMSO-d}_6$ :a ja asetoni- $\text{d}_6$ :a näytteen liukoisuuden ja stabiilisuuden mukaan. Spektrit kalibroitiin liuotinpiikkien sekä  $\text{CDCl}_3$ :lla TMS:n avulla.

Synteesit suoritettiin useita kertoja optimaalisten olosuhteiden aikaansaamiseksi, ja lähdeartikkeleissa käytettyjä liuottimia ja menetelmiä muokattiin paremmin nykyhetkeen sopiviksi.

Synteesien tuotteet olivat NMR-mittausten perusteella riittävän puhtaita jo uuttojen jälkeen, eikä tuotteita tarvinnut puhdistaa kromatografisesti. Ainoastaan työn lopputuotteet, 5'-*O*-bentsyylioksi-isopropyli- ja 5'-*O*-sykloheksyyli-isopropyli-suojatut 3'-*O*-bentsoyylitymidiinit puhdistettiin kromatografisesti silikapylväällä gradienttieluoinnilla. Gradienttina käytettiin DCM / 0,1 % TEA -liuosta, johon lisättiin 1-2 kolonnilavuuden välein 1 % MeOH:a (0 %:sta 3–4 %:iin).

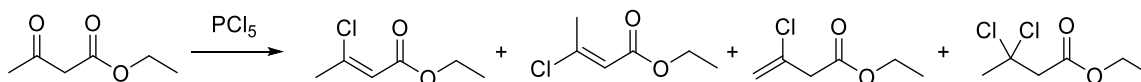
### 8.2 Liuottimet ja reagenssit

Eetteri ja THF kuivattiin kiinteällä natriumilla yön yli ja tislaamalla sen jälkeen haluttu määrä ennen reaktion suorittamista. Sykloheksanoli kuivattiin ensin  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ :lla ja sen jälkeen fraktiotislauksella.  $\text{SOCl}_2$  ja BnBr tislattiin fraktiotislauksella ennen käyttöä.

## 9 2-Alkoksipropeenien synteesit

### 9.1 2-Sykloheksyylioksipropeenin synteesi

#### Etyyli-β-kloorikrotonaatti<sup>58</sup>



Fosforipentakloridi (1 ekv.) (70 g ; 0,34 mol) lisättiin hitaasti etyyliasetoasetaatin (1,1 ekv.) (50 ml, 0,38 mol) ja toluenin (75 ml) seokseen jää-vesihauteessa noin tunnin ajan. Seos ei reagoinut erityisen kiivaasti ja CaCl<sub>2</sub>-putki oli riittävä kosteuden poistaja. Reaktion päätyttyä lisättiin varovasti vettä (noin 70 ml) ja muodostuneet faasit erotettiin. Orgaaninen faasi otettiin talteen ja vesifaasi tehtiin hitaasti emäksiseksi Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>:lla (muodostui saostuma/vaahto joka lopulta liukeni, tarvittaessa lisäti vettä), minkä jälkeen seos uutettiin toluenilla. Orgaaniset faasit yhdistettiin, pestiin 0,5 M NaOH -liuoksella ja kuivattiin Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:lla. Toluenei haihdutettiin pois. Jäljelle jääneen raakatuotteen massa (51,0 g) oli lähellä teoreettista saantoa (56,5 g). Raakatuotteen tislauksen jälkeen saannoksi saatiin 29,9 g eli 50 %. Taulukossa 11 on esitetty kaikki suoritettut etyyli-β-kloorikrotonaatin synteesit.

Tislattu tuote analysoitiin NMR-spektroskopisesti, jolloin havaittiin tuotteita olevan neljä erilaista; *cis*- ja *trans*-etyyli-β-kloorikrotonaatin lisäksi oli muodostunut etyyli-3-kloori-but-3-enoaattia sekä dikloorattua muotoa, etyyli-3,3-diklooributanoaattia, jota ei aikaisemmin ole raportoitu kirjallisuudessa.

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :

*trans*-etyyli- $\beta$ -kloorikrotonaatti: 6,02 (s, 1H,  $\text{C}(\text{Cl})=\text{CH}$ ) ; 2,26 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ )

*cis*-etyyli- $\beta$ -kloorikrotonaatti: 6,08 (s, 1H,  $\text{C}(\text{Cl})=\text{CH}$ ) ; 2,58 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ )

etyyli-3-kloori-3-butenoaatti: 5,38 ja 5,35 (s, 2H,  $\text{CH}_2=\text{C}(\text{Cl})$ ) ; 3,36 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{COOEt}$ )

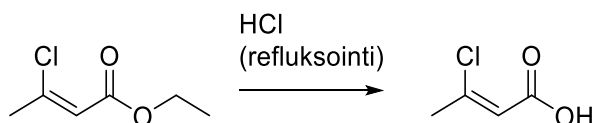
etyyli-3,3-diklooributanoaatti: 3,32 (s, 2H,  $\text{C}(\text{Cl}_2)\text{CH}_2$ ) ; 2,35 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ )

etyyliryhmät (jokaisesta yhdisteestä): 4,15-4,24 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ , etyyli) 1,26-1,32 (m, 3H,  $\text{CH}_3$ , etyyli)

**Taulukko 11.** Suoritetut etyyli- $\beta$ -kloorikrotonaatin synteesit.

Lähtöaine	Teoreettinen saanto	Raakatuotteen massa	Tislatun tuotteen massa	Tislatun tuotteen saanto
10,3 g ; 79 mmol	11,76 g	10,9 g	6,1 g	51 %
51,5 g ; 396 mmol	58,84 g	51,0 g	29,9 g	50 %
113,3 g ; 870 mmol	129,26 g	124,6 g	-	-

## $\beta$ -Kloorikrotonihappo<sup>58</sup>



Tislattu etyyli- $\beta$ -kloorikrotonaatti (4 tuotteen seos) refluksottiin veden ja väk. HCl:n seoksessa (HCl-vesi 1:1). Refluksoinnin päätyttyä seos uutettiin eetterillä. Eetterifaasit yhdistettiin ja uutettiin kyll.  $\text{NaHCO}_3$ -vesiliuoksella.  $\text{NaHCO}_3$ -faasit yhdistettiin ja tehtiin happamaksi (pH noin 3) väk. HCl:lla, tuote ulossuolattiin NaCl:lla ja uutettiin eetterillä. Eetterifaasit yhdistettiin, kuivattiin  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ :lla ja haihdutettiin. Noin puolet lähtöaineesta oli reagoinut. Eetterifaasi, joka oli uutettu  $\text{NaHCO}_3$ -liuoksella, kuivattiin ja haihdutettiin, jolloin saatiin otettua talteen myös reagoimaton lähtöaine.

Taulukossa 12 on esitetty kaikki suoritettut  $\beta$ -kloorikrotonihapon synteesit. Viimeisellä kerralla etyyli- $\beta$ -kloorikrotonaattia ei oltu tislattu ja lähtöaine sisälsi vielä tolueenia, joka ei haihtunut pyöröhaihdutuksessa. Tämä vaikeutti saantojen laskemista ja käytettyjen liuotinmäärien skaalausta.

$^1\text{H}$  NMR-spektrin perusteella tuote sisälsi edelleen neljää eri muotoa: *trans*-etyyli- $\beta$ -kloorikrotonihappoa, *cis*-etyyli- $\beta$ -kloorikrotonihappoa, 3-kloori-3-buteenihappoa sekä 3,3-diklooributaanihappoa.

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ :

*trans*-etyyli- $\beta$ -kloorikrotonihappo: 6,07 (s, 1H,  $\text{C}=\text{CHCOOH}$ ) ; 2,30 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ )

*cis*-etyyli- $\beta$ -kloorikrotonihappo: 6,12 (s, 1H,  $\text{C}=\text{CHCOOH}$ ) ; 2,60 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ )

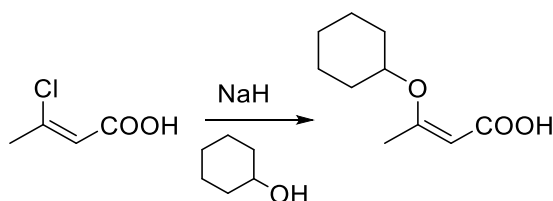
3-kloori-3-buteenihappo: 5,43 ja 5,39 (s, 2H,  $\text{CH}_2=\text{C}$ ) ; 3,42 (s, 2H,  $\text{CH}_2\text{COOH}$ )

3,3-diklooributaanihappo: 3,38 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ ) ; 2,36 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ )

**Taulukko 12.** Suoritetut  $\beta$ -kloorikrotonihapon synteesit.

Lähtöaine	HCl-vesi (ml : ml)	Refluksointi -aika	Teoreettinen saanto	Tuotteen massa	Saanto	Eristetyn lähtö- aineen massa
3,9 g ; 26 mmol	10 : 10	8 h	3,16 g	1,9 g	60 %	-
28,5 g ; 192 mmol	70 : 70	8 h	23,1 g	10,3 g	44 %	15,6 g
15,2 g ; 102 mmol	38 : 38	yön yli	12,3 g	6,0 g	48 %	-
noin 124 g (sisälsi tolueenia)	300 : 300	yön yli	(101,1 g jos ei sis. tolueenia)	15,6 g	(15 %)	48,0 g

### $\beta$ -Sykloheksyylioksikrotonihappo<sup>59</sup>



Sykloheksanolin (3 ekv.) (13 ml ; 12,5 g ; 125 mmol) ja kuivan THF:n seokseen lisättiin NaH:a (3 ekv.) (5,4 g ; 140 mmol). NaH:n liuettua seokseen lisättiin edellisessä reaktiossa saatu  $\beta$ -kloorikrotonihappo (tuoteseos) (1 ekv.) (5,05 g ; 40 mmol). Seosta refluksoititiin 8 tuntia. Refluksoinnin alussa muodostui saostuma, joka liukeni reaktion edetessä. Refluksoinnin jälkeen seos jäähdytettiin ja lisättiin varovasti vettä. Seos pestiin eetterillä. Vesifaasi tehtiin happamaksi, jolloin tuote saostui. Saostuma pestiin kylmällä vedellä ja kuivattiin vakuumissa. Tuotteen massa oli 3,5 g ja saanto 47 %. Muodostuneet kiteet olivat oransseja, kun kiteytys tehtiin huoneenlämmössä. Viimeisessä, ison skaalan reaktiossa saostus tehtiin jää-vesihauteessa, jolloin muodostunut tuote oli jauhemaista ja vaalean keltaista. Tuotteiden  $^1\text{H}$  NMR-spektrit näyttivät kuitenkin samalta.

Reaktio suoritettiin neljä kertaa. Viimeiseen ison skaalan reaktioon jopa 1 litran kolmikaulakolvi oli liian pieni, ja seos oli lähellä kuohua ulos pystyjäähdyttäjän päästä, kun refluksointi aloitettiin. Näin isossa skaalassa kannattaa käyttää isompaa kolvia (tai skaalata lähtöaineen määrää hieman pienemmäksi), sekä varmistaa että NaH on kunnolla liuennut ennen kuumennuksen aloittamista. Taulukossa 13 on esitetty kaikki suoritettut  $\beta$ -sykloheksyylioksikrotonihapon synteesit.

$^1\text{H}$  NMR-spektrin perusteella reaktiossa saostui *cis*- ja/tai *trans*- $\beta$ -sykloheksyylioksikrotonihappo. Spektrit ovat hyvin lähellä toisiaan, mutta koska 5 ppm:n alueella havaitaan vain yksi signaali ( $\alpha$ -hiilen kaksoissidosprotoni), on todennäköistä, että saostunut tuote sisältää ainoastaan yhtä muotoa. 3-sykloheksyylioksi-3-buteenihappoa reaktiossa ei muodostunut.

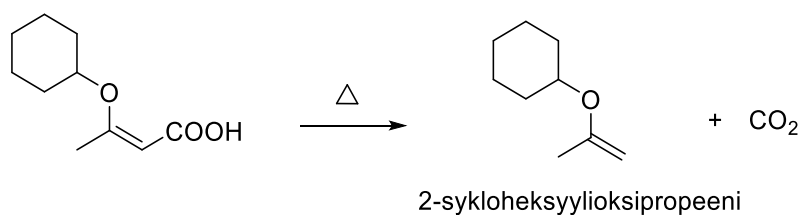
$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 11,22 (s, 1H, COOH) ; 5,02 (s, 1H,  $\text{C}=\text{CHCOOH}$ ) ; 4,15 (m, 1H, O-CH, sykloheksyyli) ; 2,29 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ; 1,2-2,0 (m, 10H,  $\text{CH}_2$ , sykloheksyyli).

**Taulukko 13.** Suoritetut  $\beta$ -sykloheksyylioksikrotonihapon synteesit.

Lähtöaine	Refluksointi aika	Saostus-lämpötila	Teoreettinen saanto	Tuotteen massa	Saanto
1,2 g ; 10 mmol	5,5 h	Huoneen-lämpö	1,83 g	-	-
5,1 g ; 40 mmol	8 h	Huoneen-lämpö	7,37 g	3,5 g	47 %
9,0 g ; 75 mmol	8 h	Huoneen-lämpö	13,76 g	3,5 g	25 %
noin 25 g ; noin 200 mmol (sis. tolueenia)	12,5 h	0 °C	38,2 g (jos lähtöainetta 25 g ilman tolueenia)	19,5 g	yli 51 % (koska todellinen teoreettinen saanto pienempi)



## 2-Sykloheksyylioksiopropeeni<sup>59</sup>



Kiinteä  $\beta$ -sykloheksyylioksiakrotonihappo punnittiin kolviin ja kolvi liitettiin mikrotislausosaan. Mikrotislausosan toiseen päähän liitettiin keräysastiaksi kolvi, joka asetettiin jää-etanoli-hauteeseen (noin  $-10\text{ }^\circ\text{C}$ ). Keräyskolvin liitântäkohtaan lisättiin parafilmiä, jotta liitos olisi mahdollisimman tiivis ja kolvi pysyisi hyvin paikallaan. Mikrotislausosaan liitettiin jäähdytysvesikierto ja lisäksi pieni argonvirtaus öljylukon kautta, jotta systeemissä olisi mahdollisimman vähän kosteutta. Mikrotislausosan alkuosa (ennen vesijäähdyttäjää) peitettiin foliolla, jotta tuote ei jäähtyisi ja tiivistyisi takaisin lähtökolviin.  $\beta$ -sykloheksyylioksiakrotonihappoa kuumennettiin lämpöpuhaltimella, jolloin se hajosi 2-sykloheksyylioksiopropeeniksi ja hiilidioksidiksi. 2-sykloheksyylioksiopropeeni tiivistyi keräyskolviin ja hiilidioksidi poistui öljylukon kautta. Taulukossa 14 on esitetty suoritettut 2-sykloheksyylioksiopropeenin synteesit.

Tuote analysoitiin NMR-spektroskopisesti. NMR-liuottimena käytettiin  $\text{CDCl}_3$ :a.  $\text{CDCl}_3$ :n havaittiin kuitenkin olevan huono vaihtoehto happolabiilille 2-sykloheksyylioksiopropeenille. Tuote analysoitiin heti näytteen tekemisen jälkeen sekä tunnin kuluttua tästä, ja jälkimmäisen mittauksen perusteella tuote oli jo alkanut hajota asetoniksi. Puhtaan tuotteen havaittiin kuitenkin säilyneen parafilmillä suojatussa kolvissa muuttumattomana vielä 1,5 kuukauden kuluttua, kun tuote analysoitiin uudelleen NMR-spektroskopisesti ja liuottimena käytettiin tuotteelle paremmin sopivaa  $\text{DMSO}-d_6$ :a.

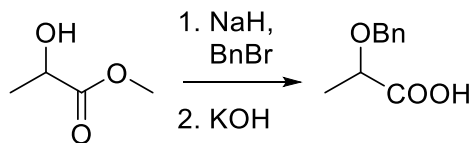
$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 3,93 ja 3,87 (s, 1H,  $\text{C}=\text{CH}_2$ ) ; 3,82 (s, 1H, O-CH) ; 1,79 (s, 3H,  $\text{CH}_3$ ) ; 1,2-2,0 (m, 10H,  $\text{CH}_2$ , sykloheksyyli).

**Taulukko 14.** Suoritetut 2-sykloheksyylioksiopropeenin synteesit.

Lähtöaine	Teoreettinen saanto	Tuotteen massa	Saanto
2,30 g ; 12,5 mmol	1,75 g	1,38 g	78 %
2,88 g ; 15,6 mmol	2,19 g	1,79 g	81 %

## 9.2 2-Bentsyylioksiopropionin synteesi

### 2-Bentsyylioksiopropionihappo<sup>60</sup>



(-)-Metyyli-L-laktaatin (1 ekv.) (40 ml ; 420 mmol) ja kuivan THF:n (noin 600 ml) joukkoon lisättiin NaH (1,2 ekv.) (20 g 60% NaH:n öljysuspensiota ; 500 mmol) 0 °C:ssa isopropanolihauteessa (pienemmällä skaalalla reaktio tehtiin jää-vesihauteessa) ja seosta sekoitettiin puoli tuntia (0 °C:ssa). Tämän jälkeen lisättiin BnBr (1,2 ekv.) (60 ml ; 500 mmol) ja seosta sekoitettiin 0 °C:ssa yön yli. Seuraavana päivänä seokseen lisättiin varovasti vettä. Seos uutettiin etyyliasetaatilla, orgaaniset faasit yhdistettiin, kuivattiin Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:lla ja haihdutettiin.

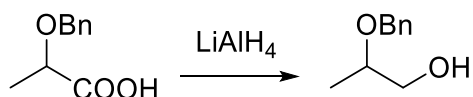
Jäännös liuotettiin metanoliin (noin 380 ml) ja seos jäähdytettiin jää-vesihauteessa 0 °C:een. Seokseen lisättiin KOH (28,2 g ; 500 mmol) liuotettuna veteen (noin 380 ml). Seosta sekoitettiin huoneenlämmössä yön yli. Metanoli haihdutettiin pois ja jäljelle jäänyt vesifaasi pestiin kolmesti etyyliasetaatilla. Etyyliasetaattifaasi uutettiin 1 M NaOH:lla ja NaOH-faasit yhdistettiin edellä saadun vesifaasin kanssa. Näin saatu vesifaasi tehtiin happamaksi (pH noin 3) ja uutettiin eetterillä. Eetterifaasi kuivattiin Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:lla ja haihdutettiin. Tuotteen massa oli 48,3 g ja saanto 64 %. Taulukossa 15 on esitetty kaikki suoritettut 2-bentsyylioksiopropionihapon synteesit.

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz, asetoni- $d_6$ )  $\delta$ : 7,22-7,42 (m, 5H, CH, bentsyyli) ; 4,45-4,75 (m, 2H,  $\text{CH}_2$  (bentsyyli)) 4,10 (kvartetti,  $J = 6,9$  Hz ; 1H,  $\text{CHCOOH}$ ) ; 1,96 (epäpuhtaus, etikkahappo) ; 1,40 (d,  $J = 6,9$  Hz ; 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**Taulukko 15.** Suoritetut 2-bentsyylioksiipropionihapon synteesit.

Lähtöaine	Sekoitus aika BnBr lisäyksen jälkeen	Tuotteen massa	Saanto
100 mmol ; 10,4 g	6 h	13,6 g	75 %
200 mmol ; 20,8 g	6 h	22,0 g	61 %
420 mmol ; 43,7 g	yön yli	48,3 g	63 %

## 2-Bentsyylioksiipropanol<sup>61</sup>



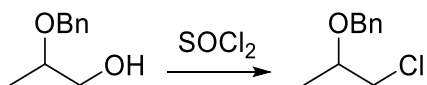
Kolmikaualakolviin punnittiin 13 g (1,3 ekv.)  $\text{LiAlH}_4$ :a. Kolviin lisättiin hitaasti (1h 45 min ajan) jää-vesihauteessa tiputussuppilosta ensin kuiva eetteri (220 ml) ja sen jälkeen lähtöaine (48,0 g ; 266 mmol), 2-bentsyylioksiipropionihappo, liuotettuna kuivaan eetteriin (110 ml). Kolvissa pidettiin argonvirtaus öljylukon avulla. Seosta sekoitettiin noin tunti jäähauhteessa ja hetki huoneenlämmössä ennen kuumennusta (ei tarpeen pienemmän skaalan reaktioissa). Seosta refluksoitettiin 50 min, jonka jälkeen se jätettiin huoneenlämpöön sekoittumaan yön yli. Seuraavana päivänä seoksesta otettiin näyte TLC:tä varten, ja tuotteen havaittiin muodostuneen sekä lähtöaineen kadonneen. Seokseen lisättiin jää-vesihauteessa varovasti ensin etyyliasettaattia, sitten jäätä, kunnes muodostui saostuma. Tämän jälkeen lisättiin 250 ml 10%  $\text{H}_2\text{SO}_4$ :a, jolloin saostuma liukeni, ja muodostui kaksi faasia. Eetterifaasi otettiin talteen ja vesifaasi uutettiin eetterillä. Eetterifaasit yhdistettiin, pestiin kyll.  $\text{NaHCO}_3$ -vesiliuoksella ja vedellä, kuivattiin  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ :lla ja haihdutettiin. Tuotteen massa oli 33,1 g ja saanto 75 %. Taulukossa 16 on esitetty kaikki suoritetut 2-bentsyylioksiipropanolin synteesit.

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7,27-7,38 (m, 5H, CH, bentsyyli) 4,45-4,70 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ , bentsyyli) ; 3,68 ja 3,61 (m, 2H,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ) ; 3,50 (m, 1H, CH-OBn) ; 1,18 (d,  $J = 6,2$  Hz ; 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**Taulukko 16.** Suoritetut 2-bentsyylioksisipropanolin synteetit.

Lähtöaine	$\text{LiAlH}_4$ määrä (ekv.)	Refluksointiaika	Teoreettinen saanto	Tuotteen massa	Saanto
13,0 g ; 72 mmol	0,85	1,5 h	11,6 g	3,8 g	32 %
22,0 g ; 122 mmol	0,76 (ei riittänyt, lisättiin lisää jälkeinpäin)	3,5 h (+ huoneen- lämmössä yön yli)	20,3 g	12,3 g	60 %
48,0 g ; 266 mmol	1,3	50 min (+ huoneen- lämmössä yön yli)	44,2 g	33,1 g	75 %

## 2-Bentsyylioksi-1-klooripropaani<sup>61</sup>



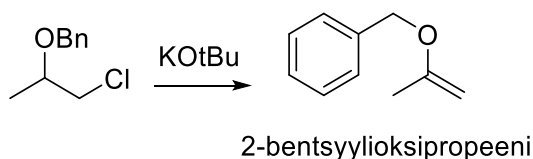
Bentsyylioksiopropanolin (1 ekv.) (16,0 g ; 96 mmol) ja pyridiinin (noin 1,7 ekv.) (12,9 ml) seokseen lisättiin varovasti  $\text{SOCl}_2$  (1,1 ekv.) (7,5 ml ; 103 mmol) septumin läpi jää-vesihauteessa. Seosta lämmitettiin  $60\text{ }^\circ\text{C}$ :ssa noin tunti, jonka jälkeen seos viilennettiin jää-vesihauteessa ja kaadettiin jääkylmän 2M HCl:n joukkoon (60 ml). Näin saatu seos uutettiin eetterillä ja yhdistetyt eetterifaasit pestiin kyll.  $\text{NaHCO}_3$ -vesiliuoksella ja vedellä kunnes pesuveden pH oli neutraali. Eetterifaasi kuivattiin  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ :lla ja haihdutettiin. Tuotteen massa oli 16,5 g ja saanto 93 %. Tuotteen joukkoon jäi kuitenkin NMR-spektrin perusteella vielä eetteriä, jota ei saatu haihdutettua. Taulukossa 17 on esitetty kaikki suoritettut 2-bentsyylioksi-1-klooripropaanin synteetit.

$^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$ : 7,25-7,37 (m, 5H, CH, bentsyyli) ; 4,54 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ , bentsyyli) ; 3,70-3,78 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}$ ) ; 3,66 (m, 1H, CH-OBn) ; 1,20 (d,  $J = 6,1$  ; 3H,  $\text{CH}_3$ ).

**Taulukko 17.** Suoritettut 2-bentsyylioksi-1-klooripropaanin synteetit.

Lähtöaine	2M HCl:n määrä	Teoreettinen saanto	Tuotteen massa	Saanto
12,0 g ; 72 mmol	50 ml	13,3 g	8,9 g	67 %
16,0 g ; 96 mmol	60 ml	17,7 g	16,5 g	93 %
16,1 g ; 97 mmol	60 ml	17,9 g	15,8 g	88 %

## 2-Bentsyylioksiipropreeni<sup>56</sup>



Kolviin punnittiin 2-bentsyylioksi-1-klooripropaani (1 ekv.) (10 g ; 54,2 mmol) ja lisättiin 10 ml DMSO:a. Kolviin lisättiin hitaasti jää-vesihauteessa KOtBu:n (1,5 ekv.) (9,2 g ; 82,0 mmol) ja DMSO:n (100 ml) seos (KOtBu ei täysin liuennut DMSO:n). 10 minuutin sekoituksen jälkeen otettiin näyte TLC:tä varten, ja havaittiin tuotteen muodostuneen ja lähtöaineen kadonneen. Seos uutettiin 2 x 100 ml:lla heksaania. Seokseen lisättiin 20 ml vettä, jotta tuote uuttuisi paremmin heksaaniin. Toisella uuttokerralla lisättiin vielä 30 ml vettä, jotta kiinteä KOtBu liukenisi. Heksaanifaasit yhdistettiin, kuivattiin Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:lla ja hahdutettiin. Tuotteen massa oli 6,72 g ja saanto 83 % (vastaa hyvin lähdeartikkelissa<sup>56</sup> ilmoitettua saantoa, 82 %). Taulukossa 18 on esitetty suoritettut 2-bentsyylioksiipropreenin synteesit.

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ: 7,27-7,43 (m, 5H, CH, bentsyyli) ; 4,73 (s, 2H, CH<sub>2</sub>, bentsyyli) ; 4,01 ja 3,94 (s, 2H, C=CH<sub>2</sub>) ; 1,80 (s, 3H, CH<sub>3</sub>).

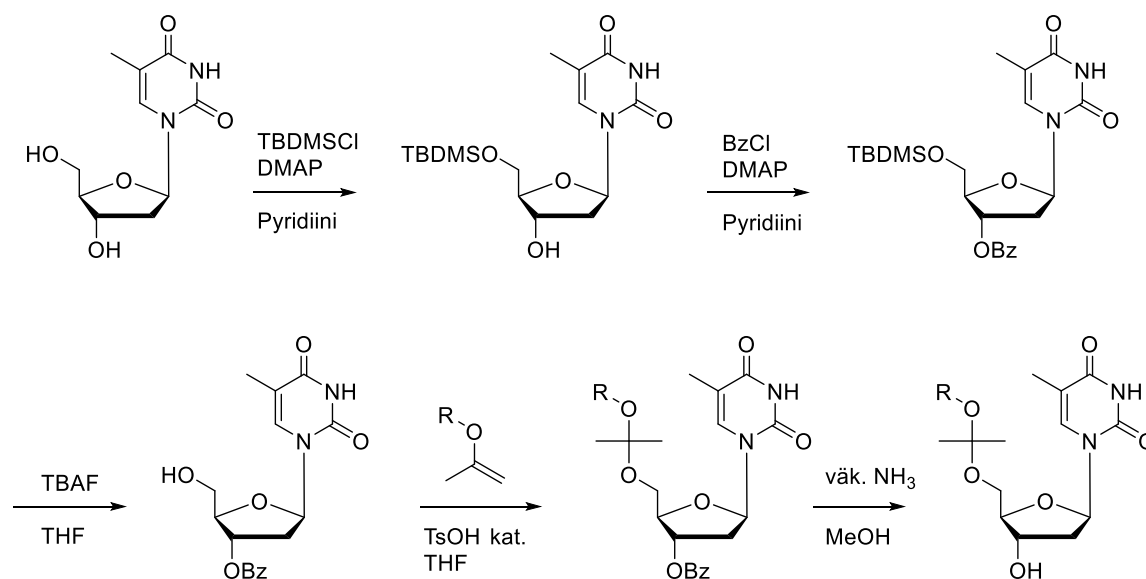
**Taulukko 18.** Suoritettut 2-bentsyylioksiipropreenin synteesit.

Lähtöaine	DMSO	Heksaaniuutto	Teoreettinen saanto	Tuotteen massa	Saanto
2,0 g ; 10,8 mmol	25 ml	2 x 50 ml + 10 ml vettä	1,60 g	1,21 g	75 %
10,0 g ; 54,2 mmol	100 ml	2 x 100 ml + 20 ml vettä, toisella uuttokerralla 30 ml lisää vettä	8,03 g	6,72 g	83 %

## 10 5'-Hydroksyyli ryhmien alkoksi-isopropyyლისuojaus

### 10.1 Synteesireitti tymidiinistä 5'-O-alkoksi-isopropyylylitymidiiniksi

Tymidiinin 3'-hydroksyyli suojattiin bentsoyyliryhmällä, jotta alkoksi-isopropyyლისuojaus saataisiin liitettyä mahdollisimman kvantitatiivisesti ainoastaan tymidiinin 5'-hydroksyyli ryhmään. 3'-O-Bentsoyylitymidiini valmistettiin Zehong Liang:n tutkimusharjoittelun työselostuksen<sup>67</sup> mukaisesti. Kaaviossa 10 on esitetty synteesireitti tymidiinistä 5'-O-alkoksi-isopropyylylitymidiiniksi. Mukaiyaman ryhmän tutkimuksen mukaan suojaus kuitenkin onnistuisi myös ilman sekundäärisen alkoholin suojausta, sillä 2-bentsyylioksipropeenin havaittiin kyseisessä tutkimuksessa reagoivan selektiivisesti (95 % saannolla) primäärisen alkoholin kanssa.<sup>56</sup>

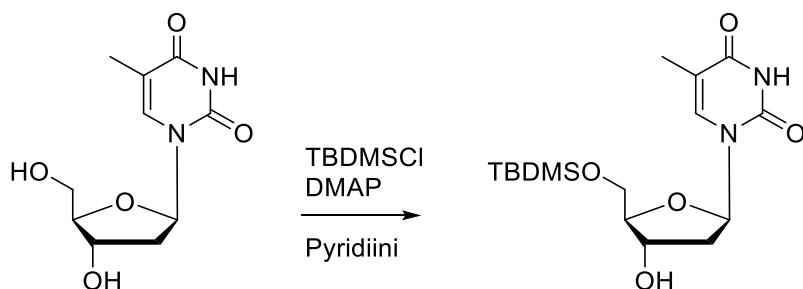


**Kaavio 10.** 5'-O-alkoksi-isopropyylylitymidiinin synteesi.



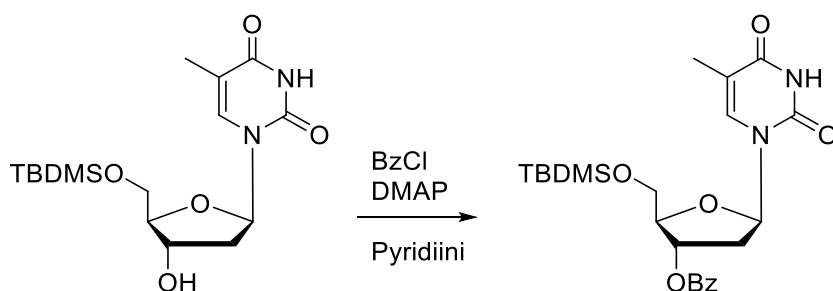
## 10.2 3'-O-Bentsoyylitymidiinin valmistus

### Tymidiinin 5'-OH:n TBDMS-suojaus<sup>67</sup>



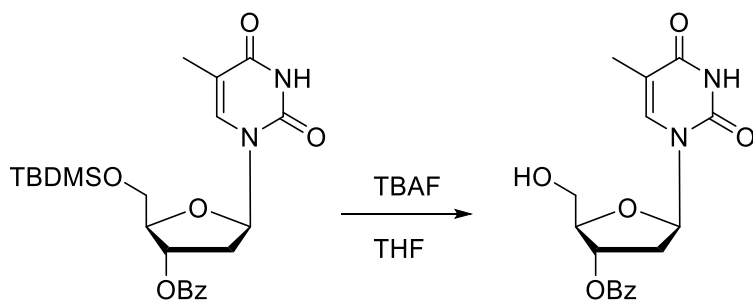
Tymidiini (15,3 g) liuotettiin 300 ml:n pyridiiniä. Noin puolet pyridiinistä haihdutettiin pois veden poistamiseksi atseotrooppisesti. Seokseen lisättiin TBDMS-Cl (11,0 g) ja katalyyttinen määrä DMAP:a. Seosta sekoitettiin yön yli huoneenlämmössä. Seuraavana päivänä lisättiin 10 ml MeOH:a ja suurin osa pyridiinistä haihdutettiin pois. Seokseen lisättiin 200 ml DCM:a ja seos pestiin kyll. NaHCO<sub>3</sub>-vesiliuoksella (3 x 100 ml) sekä kyll. NaCl-vesiliuoksella (1 x 100 ml). Vesifaasi takaisinuuutettiin DCM:lla (2 x 50 ml). Orgaaniset faasit yhdistettiin, kuivattiin Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:lla ja haihdutettiin kolmesti tolueenin kanssa. Lopuksi tuote kuivattiin öljypumpulla. Raakatuotteen saanto oli 21,6 g.

### 5'-*O*-TBDMS-tymidiinin bentsoyylisuojaus<sup>67</sup>



5'-*O*-TBDMS-tymidiini (21,6 g ; 60,6 mmol) liuotettiin 300 ml:n pyridiiniä. Noin puolet pyridiinistä haihdutettiin pois veden poistamiseksi atseotrooppisesti. Seokseen lisättiin jää-vesihauteessa ensin DMAP ja sen jälkeen BzCl (10,6 ml ; 12,8 g ; 90,9 mmol) hitaasti tiputussuppilosta 15 min ajan. Lisäyksen jälkeen jää-vesihaude poistettiin. Reaktio oli mennyt loppuun noin 1 h kuluttua. Seokseen lisättiin 10 ml MeOH:a ja pyridiini haihdutettiin mahdollisimman hyvin pois. Seokseen lisättiin 300 ml DCM:a ja seos pestiin kyll. NaHCO<sub>3</sub>-vesiliuoksella (3 x 200 ml) sekä kyll. NaCl-vesiliuoksella (1 x 200 ml). Vesifaasi takaisinuuutettiin DCM:lla (2 x 100 ml). Orgaaniset faasit yhdistettiin, kuivattiin Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:lla ja haihdutettiin. Raakatuotteen massaa ei punnittu, jatkettiin suoraan TBDMS-suojauksen poistoon.

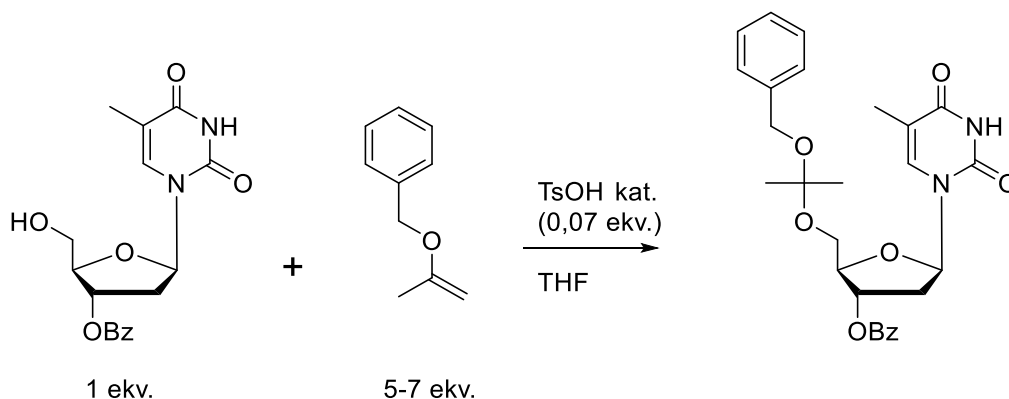
### 5'-*O*-TBDMS-suojauksen poisto<sup>67</sup>



3'-*O*-bentsoyylisuojattu 5'-*O*-TBDMS-tymidiini (noin 24 g) liuotettiin 200 ml:n THF:a ja seokseen lisättiin TBAF (16,3 g ; noin 1,15 ekv) sekä noin 20 ml THF:a. Reaktio oli lopussa 1 h 45 min jälkeen. THF haihdutettiin lähes kokonaan pois ja jäännös kaadettiin dekantteriin, jossa oli 1:1 DCM-NaHCO<sub>3</sub>-seos (300 ml DCM, 300 ml kyll. NaHCO<sub>3</sub>-vesiliuosta). Tuote saostui seoksesta. Saostuma suodatettiin imussa, mutta vesifaasi sekä suuri määrä tuotetta tekivät suodatukselta ongelmallisen. Tuote uudelleenkiteytettiin kahdessa erässä: puolet raakatuotteesta liuotettiin THF:n, suurin osa liuottimesta haihdutettiin pois ja haihdutusjäännös kaadettiin DCM:n (150 ml) joukkoon, jolloin tuote saostui. Saostuma suodatettiin ja kuivattiin imussa. Lopuksi tuote kuivattiin vielä öljypumpulla. Kuivatun, uudelleenkiteytetyn tuotteen kokonaismassa oli 10,6 g.

### 10.3 5'-Hydroksyylien suojaukset 2-alkoksipropeeneilla

#### Bentsyylioksi-isopropyylisuojaus<sup>56,62</sup>



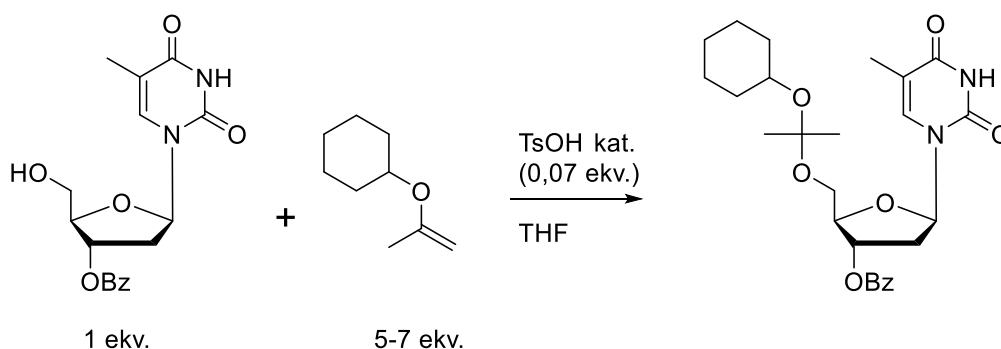
Vialiin punnittiin 3'-*O*-bentsyylylitymidiini (610 mg ; 1,76 mmol) ja lisättiin 10 ml kuivaa THF:a. Seokseen lisättiin MgSO<sub>4</sub>:a kuivausaineeksi sekä TsOH:a katalyytiksi (22 mg ; 0,116 mmol ; 0,07 ekv.). Vialia lämmitettiin öljyhauteessa (noin 45 °C) ja lisättiin 2-bentsyylioksipropeeni (1300 µl ; noin 5 ekv.). Reaktiota seurattiin TLC:llä ajoliuoksena 5 % MeOH / DCM. Tuote muodostui 15 minuutissa. 35 min sekoituksen jälkeen ajettu TLC ei eronnut 15 min tilanteesta (pieni määrä lähtöainetta jäljellä), joten reaktio pysäytettiin lisäämällä 5 pisaraa TEA:a. Seokseen lisättiin 40 ml DCM:a ja näin saatu seos pestiin 2 x 20 ml kyll. NaHCO<sub>3</sub>-vesiliuoksella ja 1 x 20 ml kyll. NaCl-vesiliuoksella. Vesifaasi takaisinuuutettiin 2 x 10 ml:lla DCM:a. Yhdistetyt DCM-faasit haihdutettiin, jolloin raakatuote saostui. Tuote kuivattiin lopuksi vakuumissa.

Kahden työn tuotteet yhdistettiin ja puhdistettiin kromatografisesti silikapylvällä (kts. s.38, Yleiset menetelmät). Tuotteiden yhteenlaskettu teoreettinen saanto oli 1,02 g. Puhdistetun, kuivatun tuotteen massa oli 0,71 g.

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO) δ:

8,02 (d, J = 7,9 Hz ; 2H, Bz-orto) ; 7,69 (t, J = 7,5 Hz ; 1H, Bz-para) ; 7,64 (s, 1H, 6) ; 7,56 (t, J = 7,8 Hz ; 2H, Bz-meta) ; 7,31 (m, 2H, Bn-orto) ; 7,29 (m, 1H, Bn-para) ; 7,24 (m, 2H, Bn-meta) ; 6,31 (t, J = 7,2 Hz ; 1H, 1') ; 4,48 (s, 2H, Bn-CH<sub>2</sub>) ; 5,50 (m, 1H, 3') ; 4,32 (kvartetti, J = 5,0 Hz ; 1H, 4') ; 3,76 (m, 2H, 5' ; 5'') ; 2,50 (m, 2H, 2' ; 2'') ; 1,80 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-C5) ; 1,43 (s, 6H, 2\*CH<sub>3</sub>, asetaali).

## Sykloheksyylioksi-isopropyylisuojaus



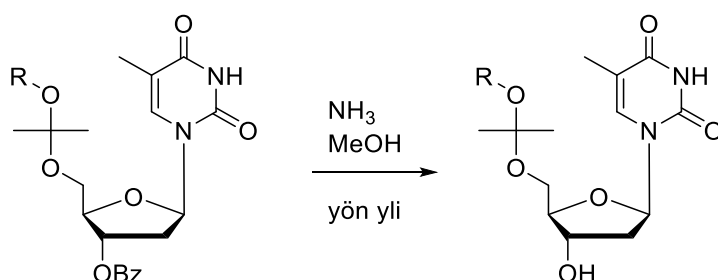
Kolviin punnittiin 3'-*O*-bentsoyylitymidiini (1,07 g) ja lisättiin 11 ml kuivaa THF:a sekä MgSO<sub>4</sub>:a kuivausaineeksi. Seokseen lisättiin 2-sykloheksyylioksiisopropeeni (2,2 g ; noin 5 ekv.) ja viimeisenä katalyytti TsOH (38 mg ; 0,065 ekv.). Tästä seoksesta otettiin heti näyte TLC:tä varten, ja tuotteen havaittiin alkaneen jo muodostua. Seosta lämmitettiin vielä 15 min 45 °C:ssa, mutta reaktio ei näyttänyt etenevän enempää, joten seokseen lisättiin 8 pisaraa TEA:a reaktion päättämiseksi. Seokseen lisättiin 100 ml DCM:a ja seosta pestiin 2 x 50 ml kyll. NaHCO<sub>3</sub>-vesiliuoksella sekä 1 x 50 ml kyll. NaCl-vesiliuoksella. Vesifaasi takaisinuuutettiin 2 x 25 ml:lla DCM:a. Yhdistetyt DCM-faasit haihdutettiin, jolloin raakatuote saostui. Tuote kuivattiin lopuksi vakuumissa.

Kahden työn tuotteet yhdistettiin ja puhdistettiin kromatografisesti silikapylvällä (kts. Yleiset menetelmät). Tuotteiden yhteenlaskettu teoreettinen saanto oli 2,22 g. Puhdistetun, kuivatun tuotteen massa oli 1,54 g.

<sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO) δ:

8,01 (d, *J* = 7,7 Hz ; 2H, Bz-orto) ; 7,69 (t, *J* = 7,5 Hz ; 1H, Bz-para) ; 7,62 (s, 1H, 6) ; 7,55 (t, *J* = 7,7 Hz ; 2H, Bz-meta) ; 6,29 (t, *J* = 7,1 Hz ; 1H, 1') ; 5,45 (m, 1H, 3') ; 4,26 (kvartetti, *J* = 3,3 Hz ; 1H, 4') ; 3,72 (d, *J* = 3,6 Hz ; 2H, 5' ; 5'') ; 3,61 (m, 1H, CH, sykloheksyyli) ; 2,47 (m, 2H, 2' ; 2'') ; 1,82 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-C5) ; 1,77 (m, 2H, CH<sub>2</sub> ; sykloheksyyli ; C2 ja C6) ; 1,59 (m, 2H, CH<sub>2</sub>, sykloheksyyli, C3 ja C5) ; 1,45 (m, 1H, CH<sub>2</sub> ; sykloheksyyli ; C4) ; 1,34 (s, 6H, 2\*CH<sub>3</sub>, asetaali) ; 1,18 (m, 2H, CH<sub>2</sub>, sykloheksyyli, C3 ja C5) ; 1,18 (m, 2H, CH<sub>2</sub> ; sykloheksyyli ; C2 ja C6) ; 1,07 (m, 1H, CH<sub>2</sub>, sykloheksyyli, C4).

#### 10.4 3'-O-Bentsoyyliryhmien poisto ammonolyysillä



Bentsoyylisuojarahmät poistettiin ammonolyysillä, jotta nukleosidien liukoisuus olisi parempi. 3'-O-Bz-suojattu 5'-O-bentsyylioksi-isopropyylitymidiini (690 mg) liuotettiin väk. NH<sub>3</sub>:n (21 ml) ja MeOH:n (25 ml) seokseen. Seosta sekoitettiin yön yli (yht. 23 h), seuraavana aamuna seos oli kirkastunut. Seos haihdutettiin EtOH:n ja tolueenin kanssa kuivaksi. Raakatuotteen massa oli 533 mg.

3'-O-Bz-suojattu 5'-O-sykloheksyylioksi-isopropyylitymidiinin ammonolyysi suoritettiin kuten edellä. TLC:n perusteella molempien yhdisteiden 5'-O-suojaukset kestivät hyvin ammonolyysin emäksisiä olosuhteita (vain pieni määrä tymidiiniä havaittiin TLC:llä, katso kuva 6). Bentsoyylisuojausten irtoaminen voitiin havaita tuotteiden 3'-protonien signaalien siirtymisenä NMR-spektreissä.

5'-O-bentsyylioksi-isopropyylitymidiinin <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO) δ:

7,54 (s, 1H, 6) ; 7,31 (m, 2H, Bn-orto) ; 7,31 (m, 1H, Bn-para) ; 7,26 (m, 2H, Bn-meta) ; 6,19 (t, J = 6,8 Hz ; 1H, 1') ; 4,44 (s, 2H, Bn-CH<sub>2</sub>) ; 4,26 (m, 1H, 3') ; 3,89 (kvartetti, J = 3,8 Hz ; 1H, 4') ; 3,62 (m, 2H, 5' ; 5'') ; 2,13 (m, 2H, 2' ; 2'') ; 1,77 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-C5) ; 1,40 (s, 6H, 2\*CH<sub>3</sub>, asetaali).

5'-*O*-sykloheksyylioksi-isopropyylitymidiinin  $^1\text{H}$  NMR (500 MHz, DMSO)  $\delta$ :  
7,50 (s, 1H, 6) ; 6,17 (t,  $J = 7,1$  Hz ; 1H, 1') ; 4,21 (m, 1H, 3') ; 3,81 (kvartetti,  $J = 3,3$  Hz ; 1H, 4') ; 3,62 (d,  $J = 3,5$  Hz ; 2H, 5' ; 5'') ; 3,57 (m, 1H, CH, sykloheksyyli) ; 2,14 (m, 2H, 2' ; 2'') ; 1,79 (s, 3H, CH<sub>3</sub>-C5) ; 1,76 (m, 2H, CH<sub>2</sub> ; sykloheksyyli ; C2 ja C6) ; 1,61 (m, 2H, CH<sub>2</sub>, sykloheksyyli, C3 ja C5) ; 1,45 (m, 1H, CH<sub>2</sub> ; sykloheksyyli ; C4) ; 1,31 (s, 6H, 2\*CH<sub>3</sub>, asetaali) ; 1,17 (m, 2H, CH<sub>2</sub>, sykloheksyyli, C3 ja C5) ; 1,17 (m, 2H, CH<sub>2</sub> ; sykloheksyyli ; C2 ja C6) ; 1,07 (m, 1H, CH<sub>2</sub>, sykloheksyyli, C4).

## 11 Stabiilisuuskokeet

Valmistettiin kaksi happoliuosta: 1 M AcOH-liuos (5 ml vettä, 300  $\mu\text{l}$  väk. AcOH:a) ja 0,1 M lutidiinium-p-tolueenisulfonaatti-vesiliuos (2 ml vettä, 56 mg 2,6-lutidiinium-p-tolueenisulfonaattia). Lutidiinium-p-tolueenisulfonaatti valmistettiin sekoittamalla 1 g TsOH:a 1,5 ml:aan 2,6-lutidiinia (noin 2 ekv.) ja lisäämällä eetteriä, jolloin haluttu suola saostui. Suola suodatettiin imussa, pestiin eetterillä ja kuivattiin imussa.

Suojatuista nukleosideista valmistettiin kantaliuokset punnitsemalla vialiin 0,30 mmol nukleosidia (noin 100 mg, riippuen yhdisteen moolimassasta) ja lisäämällä 5 ml THF:a. Näytteet pipetoitiin pienempiin vialeihin näistä kantaliuoksista. Nukleosidi-THF-liuosta pipetoitiin 1 ml ja lisättiin:

- A) 10  $\mu\text{l}$  1 M AcOH-liuosta (1 vol-%)
- B) 100  $\mu\text{l}$  1 M AcOH-liuosta (10 vol-%)
- C) 10  $\mu\text{l}$  0,1 M lutidiinium-p-tolueenisulfonaatti-liuosta (1 vol-%)
- D) 100  $\mu\text{l}$  0,1 M lutidiinium-p-tolueenisulfonaatti-liuosta (10 vol-%)

Näytteiden stabiilisuutta seurattiin TLC:n avulla (kts. Tulokset ja tulosten tarkastelu).

## 12 Yhteenveto

Tässä tutkimuksessa kehitetty synteesimenetelmä soveltuu useiden erilaisten alkoksi-isopropyylisuojarahmien valmistukseen. Kaksi toisiaan täydentävää 2-alkoksipropeenien synteesireittiä mahdollistavat erilaisten substituenttien liittämisen suojauksen alkoksiryhmään. Alkoksi-isopropyylisuojauksen stabiilisuutta on siten helppo säätää valitsemalla substituentti sen mukaisesti, halutaanko uudesta suojaryhmästä kehittää MIP-suojasta labiilimpi vai stabiilimpi ryhmä. Epäsymmetristen asetaalien hydrolyysimekanismien tunteminen auttaa sopivan alkoksiryhmän valinnassa. Stabiilisuutta on helppo säätää myös vaihtelemalla hydrolyysissä käytettyä happokatalyyttiä ja liuotinta.

2-Alkoksipropeenien synteesien kokonaissaannot jäivät pieniksi, ja synteesireitit vaativat sen vuoksi vielä kehittämistä. Reittien etuna oli kuitenkin se, ettei välituotteita tarvinnut puhdistaa kromatografisesti uuttojen jälkeen. Tymidiinin 5'-hydroksyylin suojaukset 2-alkoksipropeeneilla onnistuivat hyvin.

Tässä työssä syntetisoitu uusi sykloheksyylioksi-isopropyylisuojarahmä osoittautui yllättävän happolabiiliksi verrattuna MIP- ja bentsyylioksi-isopropyylisuojauksiin, ja on siksi kiinnostava vaihtoehto silloin, kun asetaalisuojaryhmän poiston toivotaan tapahtuvan hyvin laimeissa, lähes neutraaleissa oloissa. Nukleosidien 5'-hydroksyyli-ryhmille sykloheksyylioksi-isopropyylisuojaus on kuitenkin liian labiili. Bentsyylioksi-isopropyyli- ja MIP-suojauksen välillä ei puolestaan havaittu merkittävää stabiilisuuseroa.

Suojaryhmät ovat tärkeä osa orgaanista synteesiä, ja monimutkaiset synteesit voivat vaatia useiden suojaryhmien hyödyntämistä samaan aikaan. Kun yksi suojaryhmä halutaan poistaa ilman muiden suojausten irtoamista, on tärkeää, että kyseisen suojaryhmän stabiilisuus on juuri oikeanlainen. Alkoksi-isopropyylisuojarahmät ovat kiinnostava uusi joukko asetaalisuojaryhmiä, joiden pysyvyyksien säätömahdollisuuden avulla haluttu tarkka stabiilisuus on mahdollista saavuttaa.



## Viitteet

1. E. H. Cordes, H. G. Bull, *Chem. Rev.*, **1974**, 74, 581–603.
2. T. H. Fife, *Acc. Chem. Res.*, **1972**, 5, 264–272.
3. A. M. Wenthe, E. H. Cordes, *J. Am. Chem. Soc.*, **1965**, 87, 3173–3180.
4. J. M. O’Gorman, H. J. Lucas, *J. Am. Chem. Soc.*, **1950**, 72, 5489–5490.
5. J. D. Drumheller, L. J. Andrews, *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 3290–3293.
6. E. V. Anslyn, D. A. Dougherty, *Modern Physical Organic Chemistry*, University Science 7. Books USA, 2006.
7. M. M. Kreevoy, R. W. Taft Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, 77, 3146–3148.
8. J. Clayden, N. Greeves, S. Warren, *Organic Chemistry*, 2. p., Oxford University Press, USA, 2012.
9. T. H. Fife, *J. Am. Chem. Soc.*, **1967**, 89, 3228–3231.
10. T. H. Fife, L. H. Brod, *J. Org. Chem.*, **1968**, 33, 4136–4140.
11. J. L. Jensen, P. A. Lenz, *J. Am. Chem. Soc.*, **1978**, 100, 1291–1293.
12. J. L. Jensen, A. B. Martinez, C. L. Shimazu, *J. Org. Chem.*, **1983**, 48, 4175–4179.
13. A. T. N. Belarmino, S. Froehner, D. Zanette, J. P. S. Farah, C. A. Bunton, L. S. Romsted, *J. Org. Chem.*, **2003**, 68, 706–717.
14. A. Kankaanperä, *Acta Chem. Scand.*, **1969**, 23, 1728–1732. (part II)
15. P. Salomaa, *Ann. Acad. Sci. Fennicae, Ser. A. II*, **1961**, No. 103.
16. A. Kankaanperä, M. Lahti, *Acta Chem. Scand.*, **1969**, 9, 3266–3267.
17. E. Anderson, B. Capon, *J. Chem. Soc. (B)*, **1969**, 1033–1037.
18. E. Anderson, T. H. Fife, *J. Am. Chem. Soc.*, **1971**, 93, 1701–1704.
19. A. Kankaanperä, *Acta Chem. Scand.*, **1969**, 23, 1723–1727. (part I)
20. E. Anderson, T. H. Fife, *J. Am. Chem. Soc.*, **1969**, 91, 7163–7166.
21. A. Kankaanperä, M. Lahti, *Acta Chem. Scand.*, **1969**, 23, 2465–2474.
22. W. P. Jencks, *Chem. Rev.*, **1972**, 72, 705–718.
23. V. Gold, *Advances in Physical Organic Chemistry*, Vol. 6, 1. p., Academic Press, Iso-Britannia, 1968.
24. T. H. Fife, L. H. Brod, *J. Am. Chem. Soc.*, **1970**, 92, 1681–1684.
25. G.-A. Craze, A. J. Kirby, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. II*, **1978**, 4, 354–356.
26. P. Deslongchamps, Y. L. Dory, S. Li, *Tetrahedron*, **2000**, 3533–3537.
27. B. Liu, S. Thayumanavan, *J. Am. Chem. Soc.*, **2017**, 139, 2306–2317.

28. A. Garcia, D. A. L. Otte, W. A. Salamant, J. R. Sanzone, K. A. Woerpel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 3061–3064.
29. M. M. Kreevoy, C. R. Morgan, R. W. Taft Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **1960**, *82*, 3064–3066.
30. H. Seto, L. N. Mander, *Synth. Commun.*, **1992**, *22*, 2823–2828.
31. R. A. Holton, H. B. Kim, C. Somoza, F. Liang, R. J. Biediger, P. D. Boatman, M. Shindo, C. C. Smith, S. Kim, *J. Am. Chem. Soc.*, **1994**, *116*, 1599–1600.
32. P. J. Kocienski, *Protecting Groups*, 3. p., Georg Thieme Verlag, Saks, 2005.
33. F. A. Carey, R. J. Sundberg, *Advanced Organic Chemistry: Part B: Reaction and Synthesis*, 2. p., Springer, USA, 2007.
34. Y. Matsumoto, K. Mita, K. Hashimoto, H. Iio, T. Tokoroyama, *Tetrahedron*, **1996**, *52*, 9387–9398.
35. M. Liu, D. Zhong, J. Zhou, L. Zhou, D. Ye, *Youji Huaxue*, **2012**, *32*, 1543–1546.
36. J. Alzeer, N. Nock, G. Wassner, R. Masciadri, *Tetrahedron Lett.*, **1996**, *37*, 6857–6860.
37. E. J. Corey, J.-L. Gras, P. Ulrich, *Tetrahedron Lett.*, **1976**, *11*, 809–812.
38. B. H. Lipshutz, J. J. Pegram, *Tetrahedron Lett.*, **1980**, *21*, 3343–3346.
39. D. A. Evans, S. L. Bender, J. Morris, *J. Am. Chem. Soc.*, **1988**, *110*, 2506–2526.
40. A. I. Meyers, D. L. Comins, D. M. Roland, R. Henning, K. Shimzu, *J. Am. Chem. Soc.*, **1979**, *101*, 7104–7105.
41. N. Miyashita, A. Yoshikoshi, P. A. Grieco, *J. Org. Chem.*, **1977**, *42*, 3772–3774.
42. P. L. Barili, G. Berti, G. Catelani, F. Colonna, A. Marra, *Tetrahedron Lett.*, **1986**, *27*, 2307–2310.
43. A. Kankaanperä, *Acta Chem. Scand.*, **1969**, *23*, 2211–2213.
44. H. Monti, G. Léandri, M. Klos-Ringuet, C. Corriol, *Synth. Commun.*, **1983**, *13*, 1021–1026.
45. S. Kim, J. H. Park, *Tetrahedron Lett.*, **1987**, *28*, 439–440.
46. G. Sabitha, R. S. Babu, M. Rajkumar, R. Srividya, J. S. Yadav, *Org. Lett.*, **2001**, *3*, 1149–1151.
47. S.-T. Park, K.-Y. Ko, *Bull. Korean Chem.*, **2002**, *23*, 367–368.
48. B. C. Ranu, A. Hajra, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 355–357.
49. B. C. Ranu, A. Hajra, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, **2001**, 2262–2265.
50. B. M. Pinto, M. M. W. Buiting, K. B. Reimer, *J. Org. Chem.*, **1990**, 2177–2181.
51. H. Fujioka, Y. Minamitsuji, O. Kubo, K. Senami, T. Maegawa, *Tetrahedron*, **2011**, *67*, 2949–2960.

52. S. D. Rychnovsky, J. L. Lee, *J. Org. Chem.*, **1995**, *60*, 4318–4319.
53. G. V. M. Sharma, K. L. Reddy, P. S. Lakshmi, P. R. Krishna, *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 9229–9232.
54. M. P. Bosch, I. Petschen, A. Guerrero, *Synthesis*, **2000**, 300–304.
55. P. G. M. Wuts, T. W. Greene, *Greene's Protective Groups in Organic Synthesis*, 5. p., John Wiley & Sons, USA, 2014.
56. T. Mukaiyama, M. Ohshima, M. Murakami, *Chem. Lett.*, **1984**, *13*, 265–266.
57. G. M. Blackburn, M. J. Gait, D. Loakes, D. M. Williams, *Nucleic Acids in Chemistry and Biology*, 3. p., The Royal Society of Chemistry, UK, 2006.
58. L. F. Hatch, R. H. Perry Jr., *J. Am. Chem. Soc.*, **1955**, *77*, 1136–1138.
59. W. J. le Noble, P. J. Crean, *J. Org. Chem.*, **1962**, *27*, 3875–3878.
60. Y. Matsumura, T. Suzuki, A. Sakakura, K. Ishihara, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, Supporting Information. Saatavilla:  
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/anie.201402934/abstract> (Viitattu 13.10.2017).
61. K. Steiner, U. Graf, E. Hardegger, *Helv. Chim. Acta.*, **1971**, *54*, 845–851.
62. M. M. E. Delville, J. J.F. van Gool, I. M. van Wijk, J. C.M. van Hest, F. P.J.T. Rutjes, *J. Flow Chem.*, **2012**, *2*, 124–128.
63. G. Just, C. Luthe, M. T. P. Viet, *Can. J. Chem.*, **1983**, *61*, 712–717.
64. Z. Rappoport, *CRC Handbook of Tables for Organic Compound Identification*, 3. p., CRC Press, USA, 1967, s. 437–438.
65. L. Enders, Tutkimusharjoittelun työselostus, *Kinetic Analysis of Acid-Catalyzed Acetal Deprotection of Thymidine Derivatives and Synthesis of a Novel 5' Acetal Protected Thymidine Derivative*, Helsingin Yliopisto, Orgaanisen kemian laboratorio, 2017.
66. K. J. Ouwehand, Tutkimusharjoittelun työselostus, *Liuottimien ja happojen vaikutus tymidiinin asetaalisuojaryhmien stabiilisuuteen*, Helsingin Yliopisto, Orgaanisen kemian laboratorio, 2017.
67. Z. Liang, Tutkimusharjoittelun työselostus, *5'-O-metoksi-iso-propyylyltymidiinin valmistus ja fosfitylointi*, Helsingin yliopisto, Orgaanisen kemian laboratorio, 2016.